202210514

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202210514 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 03 月 16 日

(21)申請案號：110119852 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 06 月 01 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)* *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/06/02 美國 63/033,609

(71)申請人：美商阿克思生物科學有限公司 (美國) ARCUS BIOSCIENCES, INC. (US) 美國

(72)發明人：高熙爾 凱爾西 希微克 GAUTHIER, KELSY SIVICK (US)；華可 奈傑 帕爾漢 克林頓 WALKER, NIGEL PELHAM CLINTON (GB)；趙 曉寧 ZHAO, XIAONING (US)；李本考特 約翰 LIPPINCOTT, JOHN (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：40 項 圖式數：12 共 268 頁

(54)名稱

針對 TIGIT 的抗體

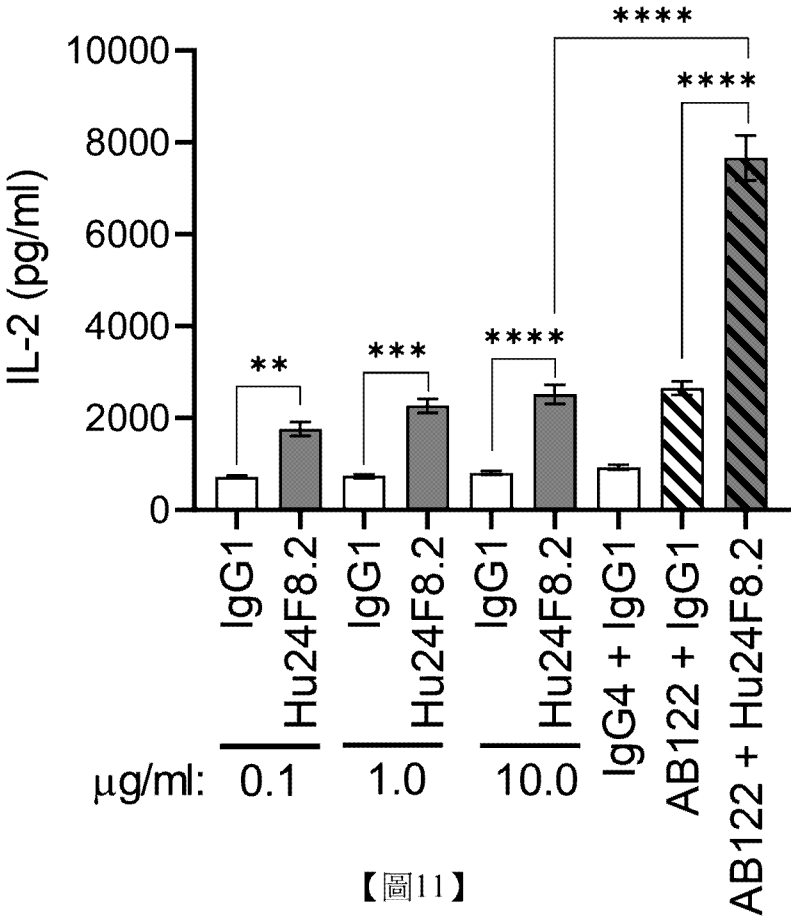
(57)摘要

本發明提供特異性結合於 TIGIT 之抗體。該等抗體具有藉由抑制 TIGIT 與 CD155 之結合而實質活化 T 細胞及自然殺手細胞之能力。該等抗體除其他應用外可用於治療癌症及傳染病。

The present disclosure provides antibodies that specifically bind to TIGIT. The antibodies have the capacity for substantial activation of T cells and natural killer cells by inhibiting binding of TIGIT to CD155. The antibodies can be used for treatment of cancer and infectious disease, among other applications.

指定代表圖：

健康供體#566


IL-2 (pg/ml)
10000
8000
6000
4000
2000
0
**
***
****
****
****
IgG1
Hu24F8.2
IgG1
Hu24F8.2
IgG1
Hu24F8.2
IgG4 + IgG1
AB122 + IgG1
AB122 + Hu24F8.2
μg/ml:
0.1
1.0
10.0

【圖11】

【發明摘要】

【中文發明名稱】

針對TIGIT的抗體

【英文發明名稱】

ANTIBODIES TO TIGIT

【中文】

本發明提供特異性結合於TIGIT之抗體。該等抗體具有藉由抑制TIGIT與CD155之結合而實質活化T細胞及自然殺手細胞之能力。該等抗體除其他應用外可用於治療癌症及傳染病。

【英文】

The present disclosure provides antibodies that specifically bind to TIGIT. The antibodies have the capacity for substantial activation of T cells and natural killer cells by inhibiting binding of TIGIT to CD155. The antibodies can be used for treatment of cancer and infectious disease, among other applications.

【指定代表圖】

圖11

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

針對TIGIT的抗體

【英文發明名稱】

ANTIBODIES TO TIGIT

【技術領域】

【0001】 本文尤其提供特異性結合於TIGIT之抗體，以及除其他應用外用於治療癌症及傳染病之用途。

【先前技術】

【0002】 在腫瘤中，存在高度抑制性微環境，其中T細胞及NK細胞之功能藉由細胞表面檢查點受體調節，使得癌細胞逃避免疫系統。抑制性檢查點受體，諸如細胞毒性T淋巴細胞相關蛋白4(CTLA-4)及計劃性細胞死亡1 (PD-1)之功能性阻斷已為患者帶來令人鼓舞的結果，從而引起人們對尋求可充當潛在干擾標靶之額外共抑制分子方面產生實質性關注。

【0003】 TIGIT (具有Ig及ITIM域之T細胞免疫受體)為在細胞質尾區中具有基於免疫受體酪胺酸之抑制性模體(ITIM)之免疫球蛋白總科之成員，為由調節T細胞(Treg)、活化T細胞及自然殺手(NK)細胞表現之共抑制受體。若干組已報導，在多種腫瘤中之$CD8^+$腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)及Treg中TIGIT表現升高。亦已報導，在血液中HIV感染及淋巴組織中SIV感染期間，效應子$CD8^+$ T細胞展現較高水準之TIGIT。此外，TIGIT阻斷在人類T細胞培養物中展現活化活性且在不同腫瘤之動物模型中展現治療益處。因此，TIGIT在抗腫瘤免疫性中起重要作用且可充當用於控制癌症及其他各種疾病及病況之有前景的治療標靶。因此，出於有益治療目

的，需要可能干擾TIGIT結合之分子。

【發明內容】

【0004】 本發明尤其係關於抗TIGIT抗體。

【0005】 本文提供一種抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包括(a)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 36具有至少80%序列一致性之重鏈(HC)互補決定區(CDR) 1、與SEQ ID NO: 37具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 38具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 39具有至少80%序列一致性之輕鏈(LC) CDR1、與SEQ ID NO: 40具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 41具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(b)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 42具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 43具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 44具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 45具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 46具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 47具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(c)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 48具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 49具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 50具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 51具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 52具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 53具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(d)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 54具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID

NO: 55具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 56具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 57具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 58具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 59具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(e)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 60具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 61具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 62具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 64具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(f)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 60具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 66具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(g)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 69具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 55具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 70具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 71具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(h)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 72具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID

NO: 73具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；或(i)重鏈可變區，該重鏈可變區包括與SEQ ID NO: 74具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 75具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包括與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3。

【0006】 在一些實施例中，抗TIGIT抗體或其抗原結合片段包括(a)與SEQ ID NO: 1具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 2具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(b)與SEQ ID NO: 3具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 4具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(c)與SEQ ID NO: 5具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 6具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(d)與SEQ ID NO: 7具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 8具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(e)與SEQ ID NO: 9具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 10具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(f)與SEQ ID NO: 11具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 12具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(g)與SEQ ID NO: 13具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 14具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(h)與SEQ ID NO: 15

具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 16具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(i)與SEQ ID NO: 17具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 12具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(j)與SEQ ID NO: 76具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 77具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(k)與SEQ ID NO: 78具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 77具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(l)與SEQ ID NO: 76具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 79具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；或(m)與SEQ ID NO: 78具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 79具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區。

【0007】 本文提供結合於抗原決定基之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，該抗原決定基包括以下TIGIT之胺基酸殘基中之至少一者：SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。在一些實施例中，抗TIGIT抗體結合於抗原決定基，該抗原決定基包括至少以下TIGIT之殘基：SEQ ID NO: 80之D72，及SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、S80及K82中之至少一者。在一些實施例中，抗TIGIT抗體結合於抗原決定基，該抗原決定基包括至少以下TIGIT之殘基：SEQ ID NO: 80之E60及D72，及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、S80及K82中之至少一者。在一些實施例中，抗TIGIT抗體結合於抗原決定基，該抗原決定基包括至少以下TIGIT之殘基：SEQ ID NO: 80之D72及K82，及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60及S80中之至少一者。在一些實施例中，抗TIGIT抗體結合於抗原決定基，該抗原決定基包括至少以下TIGIT之殘基：SEQ ID NO: 80之E60、D72及K82，及視情況存在

之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58及S80中之至少一者。在一些實施例中，抗體具有如本文中所描述之CDR及可變序列之結構特徵。

【0008】 本發明之抗TIGIT抗體可為分離抗體。在一些實施例中，抗TIGIT抗體或其抗原結合片段為單株抗體。在一些實施例中，抗TIGIT抗體或其抗原結合片段係嵌合、人類化或面飾化抗體。在一些實施例中，嵌合抗體包括人類IgG1/κ Fab恆定域。在一些實施例中，抗TIGIT抗體或其抗原結合片段為人類抗體。在一些實施例中，抗TIGIT抗體或其抗原結合片段抑制TIGIT與CD155之結合。

【0009】 本文提供一種醫藥組合物，其包括如本發明中所描述之抗TIGIT抗體及醫藥學上可接受之載劑。

【0010】 本文提供一種治療癌症或實現癌症預防之方法，其包括向患有癌症或具有患癌症風險之個體投與有效療法或治療有效量之本發明中所描述之任何抗TIGIT抗體。在一些實施例中，癌症為血液癌。在一些實施例中，癌症為急性骨髓性白血病或成人T細胞白血病。在一些實施例中，癌症為實體腫瘤、非小細胞肺癌、黑色素瘤、子宮頸癌、多發性骨髓瘤、淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(non-hodgkin lymphoma)、彌漫性大B細胞淋巴瘤、胃癌、胃食道接合處腺癌或食道癌。在一些實施例中，亦向個體投與腫瘤浸潤性T細胞。在一些實施例中，亦向個體投與誘導針對癌症之免疫反應的疫苗。在一些實施例中，疫苗包括在癌細胞之表面上表現的抗原或其片段。在一些實施例中，亦向個體投與自然殺手細胞，其針對癌症之細胞毒性係藉由該抗體增強。在一些實施例中，向個體進一步投與特異性結合於在癌細胞表面上表現之抗原的第二抗體，藉此針對癌症之第二抗體的效應子介導之細胞毒性係藉由本發明之抗TIGIT抗體增強。在一些

實施例中，進一步向個體投與特異性結合於在免疫細胞表面上表現之抗原的第二抗體。在一些實施例中，免疫細胞係T細胞或自然殺手細胞。在一些實施例中，抗原為CTLA-4、PD-1或PD-L1。在一些實施例中，進一步向個體投與一或多種選自由化學療法、放射、基於細胞之療法及外科手術組成之群的療法。在一些實施例中，向個體進一步投與一或多種免疫檢查點受體或配體的抑制劑。在一些實施例中，一或多種免疫檢查點受體或配體係選自由以下組成之群：CTLA-4、PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、PVRIG、BTLA、VISTA、CD96、$A_{2a}R$、$A_{2b}R$、$A_{2a}/A_{2b}R$、精胺酸酶、CD39、CD73、IDO及TDO。在一些實施例中，一或多種免疫檢查點受體或配體選自由以下組成之群：CTLA-4、PD-1、PD-L1、$A_{2a}R$、$A_{2b}R$、$A_{2a}/A_{2b}R$、精胺酸酶、CD39及CD73。在一些實施例中，抑制劑係選自由以下組成之群：伊匹單抗(ipilimumab)、曲美單抗(tremelimumab)、納武單抗(nivolumab)、派姆單抗(pembrolizumab)、拉立珠單抗(lambrolizumab)、西米普利單抗(cemiplimab)、替雷利珠單抗(tislelizumab)、賽帕利單抗(zimberelimab)、度伐利尤單抗(durvalumab)及阿特珠單抗(atezolizumab)。

【0011】本文提供一種幫助治療癌症之方法，其包括向患有癌症之個體投與治療有效量之本文所描述之抗TIGIT抗體中之任一者。在一些實施例中，癌症為血液癌。在一些實施例中，癌症為急性骨髓性白血病或成人T細胞白血病。在一些實施例中，癌症為實體腫瘤、非小細胞肺癌、黑色素瘤、子宮頸癌、多發性骨髓瘤、淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、胃癌、胃食道接合處腺癌或食道癌。在一些實施例中，亦向個體投與由抗體活化之腫瘤浸潤性T細胞。在一些實施例中，亦向個

體投與誘導針對癌症之免疫反應的疫苗，該免疫反應係藉由抗體增強。在一些實施例中，疫苗包括在癌細胞表面上表現的抗原或其片段。在一些實施例中，亦向個體投與自然殺手細胞，其針對癌症之細胞毒性係藉由本發明之抗TIGIT抗體增強。在一些實施例中，亦向個體投與特異性結合於在癌細胞表面上表現之抗原的第二抗體，藉此針對癌症之第二抗體的效應子介導之細胞毒性係藉由本發明之抗TIGIT抗體增強。在一些實施例中，進一步向個體投與特異性結合於在免疫細胞表面上表現之抗原的第二抗體。在一些實施例中，免疫細胞係T細胞或自然殺手細胞。在一些實施例中，抗原為CTLA-4、PD-1或PD-L1。在一些實施例中，進一步向個體投與一或多種選自由化學療法、放射、基於細胞之療法及外科手術組成之群的療法。在一些實施例中，向個體進一步投與一或多種免疫檢查點受體或配體的抑制劑。在一些實施例中，一或多種免疫檢查點受體或配體係選自由以下組成之群：CTLA-4、PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、PVRIG、BTLA、VISTA、CD96、$A_{2a}R$、$A_{2b}R$、$A_{2a}/A_{2b}R$、精胺酸酶、CD39、CD73、IDO及TDO。在一些實施例中，一或多種免疫檢查點受體或配體選自由以下組成之群：CTLA-4、PD-1、PD-L1、$A_{2a}R$、$A_{2b}R$、$A_{2a}/A_{2b}R$、精胺酸酶、CD39及CD73。在一些實施例中，抑制劑係選自由以下組成之群：伊匹單抗、曲美單抗、納武單抗、派姆單抗、拉立珠單抗、西米普利單抗、替雷利珠單抗、賽帕利單抗、度伐利尤單抗及阿特珠單抗。

【0012】除非實施例或態樣之上下文中明確地或清楚地排除，否則本文所描述之態樣及實施例中之每一者能夠一起使用。

【圖式簡單說明】

【0013】 **圖1A**展示21F8之成熟VH (SEQ ID NO: 1)及21F8之成熟VL (SEQ ID NO: 2)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 36)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 37)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 38)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 39)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 40)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 41)。

【0014】 **圖1B**展示30M18之成熟VH (SEQ ID NO: 3)及30M18之成熟VL (SEQ ID NO: 4)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 42)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 43)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 44)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 45)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 46)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 47)。

【0015】 **圖1C**展示24F8之成熟VH (SEQ ID NO: 5)及24F8之成熟VL (SEQ ID NO: 6)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 48)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 49)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 50)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 51)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 52)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 53)。

【0016】 **圖1D**展示5J24之成熟VH (SEQ ID NO: 7)及5J24之成熟VL (SEQ ID NO: 8)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 54)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 55)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 56)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 57)、LC-

CDR2 (SEQ ID NO: 58)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 59)。

【0017】 **圖1E**展示21B9之成熟VH (SEQ ID NO: 9)及21B9之成熟VL (SEQ ID NO: 10)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 60)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 61)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 62)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 63)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 64)及LC-CDR3 (SEQ ID NO 65)。

【0018】 **圖1F**展示22B22之成熟VH (SEQ ID NO: 11)及22B22之成熟VL (SEQ ID NO: 12)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 60)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 66)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 67)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 63)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 68)及LC-CDR3 (SEQ ID NO 65)。

【0019】 **圖1G**展示28P24之成熟VH (SEQ ID NO: 13)及28P24之成熟VL (SEQ ID NO: 14)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 69)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 55)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 70)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 71)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 68)及LC-CDR3 (SEQ ID NO 65)。

【0020】 **圖1H**展示21B16之成熟VH (SEQ ID NO: 15)及21B16之成熟VL (SEQ ID NO: 16)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 72)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 73)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 67)。VL之CDR1、

CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 63)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 68)及LC-CDR3 (SEQ ID NO 65)。

【0021】**圖1I**展示28O12之成熟VH (SEQ ID NO: 17)及28O12之成熟VL (SEQ ID NO: 12)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 74)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 75)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 67)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 63)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 68)及LC-CDR3 (SEQ ID NO 65)。

【0022】**圖1J**展示Hu24F8.1之成熟VH (SEQ ID NO: 76)及Hu24F8.1之成熟VL (SEQ ID NO: 77)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 48)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 49)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 50)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 51)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 52)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 53)。

【0023】**圖1K**展示Hu24F8.2之成熟VH (SEQ ID NO: 78)及Hu24F8.2之成熟VL (SEQ ID NO: 77)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 48)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 49)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 50)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 51)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 52)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 53)。

【0024】**圖1L**展示Hu24F8.3之成熟VH (SEQ ID NO: 78)及

Hu24F8.3之成熟VL (SEQ ID NO: 79)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 48)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 49)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 50)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 51)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 52)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 53)。

【0025】 **圖1M**展示Hu24F8.4之成熟VH (SEQ ID NO: 76)及Hu24F8.4之成熟VL (SEQ ID NO: 79)的胺基酸序列。VH之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為HC-CDR1 (SEQ ID NO: 48)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 49)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 50)。VL之CDR1、CDR2及CDR3胺基酸序列為帶下劃線的且分別鑑別為LC-CDR1 (SEQ ID NO: 51)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 52)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 53)。

【0026】 **圖2**展示Ch24F8、Ch28O12及Ch22B22能夠結合於在食蟹獼猴$CD4^+$及$CD8^+$細胞上表現之食蟹獼猴TIGIT。獲得螢光強度之幾何平均值(gMFI)，且資料呈現為gMFI相對於同型對照之倍數。

【0027】 **圖3A**為展示人類化抗TIGIT抗體與過度表現人類TIGIT之CHO-K1細胞的結合的圖。

【0028】 **圖3B**為展示人類化抗TIGIT抗體與過度表現食蟹獼猴TIGIT之CHO-K1細胞的結合的圖。

【0029】 **圖4A**為展示人類化抗TIGIT與過度表現小鼠TIGIT之CHO-K1細胞的結合的圖。

【0030】 **圖4B**為展示人類化抗TIGIT與過度表現大鼠TIGIT之CHO-

K1細胞的結合的圖。

【0031】 **圖5A**為展示人類化抗TIGIT抗體與人類未活化$CD8^+$ T細胞之結合的圖。

【0032】 **圖5B**為展示人類化抗TIGIT抗體與人類活化$CD8^+$ T細胞之結合的圖。

【0033】 **圖6**為展示藉由人類化抗TIGIT抗體抑制人類CD155與過度表現人類TIGIT之CHO-K1細胞結合的圖。

【0034】 **圖7**為展示在Jurkat雙報導體細胞株阻斷分析中藉由人類化抗TIGIT抗體抑制人類CD155與人類TIGIT結合的圖。

【0035】 **圖8**展示Fab24F8與TIGIT之結合。

【0036】 **圖9**展示與Fab24F8具有氫鍵結、鹽橋及凡得瓦爾相互作用(van der Waals interaction)之TIGIT殘基。

【0037】 **圖10A及圖10B**展示CD155與TIGIT之結合藉由Fab24F8阻斷。**圖10A**展示結合於人類TIGIT (表示為分子表面)之人類CD155 (帶狀表示)的複雜結構之示意圖。**圖10B**展示CD155以與**圖10A**相同之定向疊加至結合於TIGIT (各自由分子表面表示)之Fab24F8的晶體結構錯合物之示意圖上。

【0038】 **圖11**展示單一個體，在Hu24F8.2-IgG1、AB122、AB122及Hu24F8.2-IgG1或同型對照存在下對SEA有IL-2反應。條形圖及誤差描繪平均值±標準誤差平均值。** $p<0.01$，*** $p<0.001$，**** $p<0.0001$，Sidak多重比較測試之單向方差分析(各濃度的Hu24F8.2-IgG1與IgG1及AB122+Hu24F8.2-IgG1與AB122單獨或Hu24F8.2-IgG1單獨)。

【0039】 **圖12A**展示在Hu24F8.2-IgG1或同型對照存在下健康或癌

症個體PBMC對SEA之IL-2反應。各符號代表個別個體。*p<0.05，配對t-檢驗。

【0040】 **圖12B**展示在AB122存在下與AB122及Hu24F8.2-IgG1相比健康個體PBMC對SEA之IL-2反應。各符號代表個別個體。*p<0.05，配對t-檢驗。

【實施方式】

【0041】 本申請案主張2020年6月02日申請之美國臨時申請案第63/033,609號之優先權，其揭示內容以全文引用之方式併入本文中，包括任何附圖。

【0042】 本申請案含有序列表，其以全文引用之方式併入本文中。命名為050658_531001WO_Sequence_Listing_ST25之隨附序列表文本文件在2021年5月25日創建且為143 KB。

【0043】 本發明尤其提供特異性結合於TIGIT之胞外域的抗體。本發明之抗體，在本文中亦稱為「抗TIGIT抗體」，抑制TIGIT與CD155之結合且進而可活化T細胞及/或NK細胞。該等抗體亦可用於治療癌症及傳染病以及其他應用。本發明之抗TIGIT抗體之其他結構及功能特徵進一步詳細描述於下文中。

【0044】

I. 定義

除非另外定義，否則本文所使用之所有技術術語、符號及其他科學術語或術語集意欲具有涉及本發明之熟習此項技術者通常理解的含義。在一些情況下，為了清楚起見及/或為便於參考，本文中定義具有通常所理解之含義的術語，且本文中包括此類定義不應必然解釋為表示與此項技術

中一般理解之實質性差異。熟習此項技術者能很好理解且通常使用習知方法論來使用本文中描述或參考之許多技術及程序。

【0045】 除非上下文另外明確指示，否則單數形式「一(a/an)」及「該」包括複數個參考物。例如，術語「cell」包括一或多種細胞，包括其混合物。在本文中使用「A及/或B」來包括以下所有替代形式：「A」、「B」、「A或B」及「A及B」。

【0046】 術語「抗體」包括特異性結合於單一抗原或特異性結合於多抗原(例如多特異性抗體，諸如雙特異性抗體、三特異性抗體等)之完整抗體及其結合片段。因此，除非本文另有規定，否則對抗體之任何提及應理解為係指呈完整形式的抗體或結合片段。在本發明之上下文中涵蓋之額外功能性(例如，抗原結合)包括抗PD-1、抗PD-LI、抗TIM-3、抗LAG-3、抗PVRIG、抗VISTA、抗CTLA-4、抗4-1BB、抗BTLA、抗CD39、抗CD73、抗OX40L及抗OX40片段。

【0047】 可與「抗原結合片段」互換使用之術語「結合片段」在本文中係指由包含一或多個CDR之抗體之一部分或特異性結合於抗原但不包含完整天然抗體結構之任何其他抗體片段形成的抗體片段。抗原結合片段之實例包括(但不限於)雙功能抗體、Fab、Fab'、$F(ab')_2$、$F(ab)_c$、Fv片段、二硫鍵穩定之Fv片段(dsFv)、$(dsFv)_2$、雙特異性dsFv (dsFv-dsFv')、二硫鍵穩定之雙功能抗體(ds雙功能抗體)、三功能抗體、四功能抗體、單鏈抗體分子(scFv)、scFv二聚體、多特異性抗體、駱駝單域抗體、奈米抗體、微型抗體、域抗體、二價域抗體、IgNAR、V-NAR及hcIgG。通常，結合片段與衍生其之完整抗體競爭特異性結合。結合片段可藉由重組DNA技術或藉由完整免疫球蛋白之酶促或化學分離來產生。

【0048】 關於抗體之「Fab」係指由單一輕鏈(可變區及恆定區)組成之抗體的部分，藉由二硫鍵與單一重鏈之可變區及第一恆定區結合。

【0049】 「Fab'」係指包括鉸鏈區的一部分的Fab片段。

【0050】 「$F(ab')_2$」係指Fab'之二聚體。

【0051】 關於抗體之「Fc」係指由第一重鏈之第二及第三恆定區組成之抗體的部分，經由二硫鍵與第二重鏈之第二及第三恆定區結合。抗體之Fc部分負責各種效應子功能，諸如ADCC及CDC，但不參與抗原結合。

【0052】 關於抗體之「Fv」係指抗體中攜帶完整抗原結合位點之最小片段。Fv片段由結合至單一重鏈之可變區的單一輕鏈之可變區組成。

【0053】 「單鏈Fv抗體」或「scFv」係指由直接或經由肽連接子序列彼此連接之輕鏈可變區及重鏈可變區組成的經工程改造之抗體(Huston J.S.等人, *Proc Natl Acad Sci USA*, 85:5879(1988))。

【0054】 「單鏈Fv-抗體」或「scFv-Fc」係指由連接至抗體之Fc區之scFv組成的經工程改造之抗體。

【0055】 「駱駝單域抗體」、「重鏈抗體」、或「HCAb」係指含有兩個VH域且無輕鏈之抗體(Riechmann L.及Muyldermans S., *J Immunol Methods*. December 10; 231(1-2): 25-38 (1999)；Muyldermans S., J Biotechnol. June; 74(4):277-302 (2001)；WO94/04678；WO94/25591；U.S. Pat. No. 6,005,079)。重鏈抗體最初來源於駱駝科(駱駝、單峰駱駝及美洲駝)。雖然不含輕鏈，但駱駝抗體具有可靠的抗原結合譜系(Hamers-Casterman C.等人, *Nature*. June 3; 363(6428):446-8 (1993)；Nguyen V. K.等人, “Heavy-chain antibodies in Camelidae; a case of evolutionary innovation,” *Immunogenetics*. April; 54(1):39-47 (2002)；Nguyen V. K.

等人, *Immunology*. May; 109(1):93-101 (2003))。重鏈抗體之可變域(VHH域)表示由適應性免疫反應產生之最小已知抗原結合單元(Koch-Nolte F.等人, *FASEB J.* November; 21(13):3490-8. Epub 2007 Jun. 15 (2007))。

【0056】「奈米抗體」係指由來自重鏈抗體之VHH域及兩個恆定域CH2及CH3組成的抗體片段。

【0057】「雙功能抗體」包括具有兩個抗原結合位點之小抗體片段，其中片段包含連接至同一多肽鏈中之V_L域(V_H-V_L或V_L-V_H)的V_H域(參見例如，Holliger P.等人, *Proc Natl Acad Sci USA*. July 15; 90(14):6444-8 (1993); EP404097; WO93/11161)。藉由使用過短以使得同一鏈上之兩個域之間不能配對的連接子，迫使域與另一條鏈之互補域配對，從而產生兩個抗原結合位點。抗原結合位點可靶向相同或不同抗原(或抗原決定基)。

【0058】「域抗體」係指僅含有重鏈可變區或輕鏈可變區之抗體片段。在某些情況下，兩個或多個V_H域由肽連接子共價接合以產生二價或多價域抗體。二價域抗體之兩個V_H域可靶向相同或不同抗原。

【0059】在某些實施例中，「$(dsFv)_2$」包含三個肽鏈：兩個V_H部分藉由肽連接子連接且藉由二硫橋鍵結合至兩個V_L部分。

【0060】在某些實施例中，負載雙功能抗體容納包含V_{H1}-V_{L2} (藉由肽連接子連接)，其經由V_{H1}與V_{L1}之間的二硫橋鍵結合至V_{L1}-V_{H2} (亦藉由肽連接子連接)。

【0061】在某些實施例中，「雙特異性dsFv」或「dsFv-dsFv'」包含三個肽鏈：V_{H1}-V_{H2}部分，其中重鏈藉由肽連接子(例如長可撓性連接子)

連接且分別經由二硫橋鍵結合至V_{L1}及V_{L2}部分，其中各二硫基成對之重鏈及輕鏈具有不同抗原特異性。

【0062】 在某些實施例中，「scFv二聚體」為二價雙功能抗體或二價ScFv (BsFv)，其包含與另一V_H-V_L部分二聚以使得一個部分之V_H'與另一部分之V_L'配位且形成可靶向相同抗原(或抗原決定基)或不同抗原(或抗原決定基)之兩個結合位點的V_H-V_L (藉由肽連接子連接)。在其他實施例中，「scFv二聚體」為雙特異性雙功能抗體，其包含與V_{L1}-V_{H2} (由肽連接子連接)相關聯的V_{H1}-V_{L2} (亦由肽連接子連接)，使得V_{H1}及V_{L1}配位且V_{H2}及V_{L2}配位且各配位對具有不同抗原特異性。「經分離之」抗體為已與其天然環境之組分分離之抗體。在一些實施例中，如藉由此項技術中已知之方法所測定，將經分離之抗體純化至大於95%或99%純度。

【0063】 如本文所用之「單株抗體」係指自單一複本或純系(包括任何真核、原核或噬菌體純系)衍生之抗體。「單株抗體」不限於藉由任何特定方法產生之抗體。例如，單株抗體可使用融合瘤技術以及重組技術、噬菌體呈現技術、合成技術或此類技術之組合及此項技術中熟知之其他技術來產生。

【0064】 如本文中所使用，術語「人類化抗體」係指含有來自人類及非人類(例如小鼠或大鼠)抗體之序列的抗體。

【0065】 如本文所使用，術語「人類抗體」意謂抗體具有或由一或多種胺基酸序列組成，特定言之抗原結合殘基，對應於由人類或人類免疫細胞產生之抗體的胺基酸序列，或來源於非人類來源，諸如利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列的轉殖基因非人類動物。在某些實施例中，全人類抗體不包含來源於非人類抗體之胺基酸殘基(特定言之抗原結合殘

基)。

【0066】 例如如由天然完整抗體例示之基本抗體結構單元為次單元之四聚體。各四聚體包括兩對相同的多肽鏈，每對具有一個「輕」鏈(約25 kDa)及一個「重」鏈(約50-70 kDa)。各鏈之胺基端部分包括主要負責抗原識別之具有約100至110個或更多個胺基酸之可變區。該可變區初始地表現鍵聯至可斷裂信號肽。無信號肽之可變區有時稱為成熟可變區。因此，例如，輕鏈成熟可變區意謂無輕鏈信號肽之輕鏈可變區。各鏈之羧基端部分界定主要負責效應子功能之恆定區。

【0067】 輕鏈分類為κ或λ。重鏈分類為γ、μ、α、δ或ε，且分別定義抗體之同型為IgG、IgM、IgA、IgD及IgE。在輕鏈及重鏈內，可變區及恆定區由具有約12個或更多個胺基酸之「J」區連接，其中重鏈亦包括具有約10個或更多個胺基酸之「D」區。(通常參見，*Fundamental Immunology* (Paul, W.編, 第2版. Raven Press, N.Y., 1989), Ch. 7) (出於所有目的以全文引用之方式併入)。

【0068】 各輕鏈/重鏈對之成熟可變區形成抗體結合位點。因此，完整的天然抗體具有兩個相同結合位點；雙特異性抗體具有兩個不相同結合位點；三特異性抗體具有三個不相同結合位點；等等。重鏈及輕鏈之成熟可變區皆展現由三個高變區(亦稱為互補決定區或CDR)接合之相對保守構架區(FR)之相同通用結構。自各對之兩鏈之CDR藉由構架區對齊，使得能夠結合於特異性抗原決定基。自N端至C端，輕鏈及重鏈均包括域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。胺基酸於各域之分配係根據Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (國立衛生研究院(National Institutes of Health), Bethesda, MD, 1987及1991)或

Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)；Chothia等人, *Nature* 342:878-883 (1989)之定義進行。Kabat亦提供一種廣泛使用的編號規約(Kabat編號)，其中給不同重鏈之間或不同輕鏈之間的相應殘基分配相同編號。

【0069】 術語「抗原決定基」係指抗原上由抗體結合之位點。抗原決定基可由藉由一或多個蛋白質之三級摺疊而並列之相連胺基酸或非相連胺基酸形成。由相鄰胺基酸形成的抗原決定基(亦稱為線性抗原決定基)通常保留暴露於變性溶劑，而由三級摺疊形成的抗原決定基(亦稱為構形抗原決定基)通常對變性溶劑處理不起作用。抗原決定基在獨特空間構形中通常包括至少3個，且更通常至少5個或8-10個胺基酸。測定抗原決定基之空間構形之方法包括例如X射線結晶學及2維核磁共振。參見例如Epitope Mapping Protocols, 在*Methods in Molecular Biology*中, 第66卷, Glenn E. Morris, 編(1996)。

【0070】 辨識相同或重疊抗原決定基之抗體可在顯示一個抗體與另一抗體競爭結合至目標抗原之能力之簡單免疫分析中得到識別。抗體之抗原決定基亦可以由與其抗原結合以鑑別接觸殘基的抗體的X射線結晶學定義。可替代地，若抗原中減少或消除一個抗體之結合之所有胺基酸突變減少或消除另一抗體之結合，則兩個抗體具有相同抗原決定基。若減少或消除一個抗體之結合的一些但非所有胺基酸突變減少或消除另一抗體之結合，則兩個抗體具有重疊抗原決定基。

【0071】 抗體之間的競爭藉由如下分析測定：其中在測試條件下，抗體抑制參考抗體與共同抗原的特異性結合(參見例如Junghans等人, *Cancer Res.* 50:1495, 1990)。若過量測試抗體(例如至少2×、3×、4×、

5×、6×、7×、8×、9×、10×、15×、20×、25×、30×、35×、40×、45×、50×、60×、70×、80×、90×、100×或更多，包括在此等值之間的數值)抑制參考抗體之結合至少約50%，諸如至少約75%、90%或99%，則測試抗體與參考抗體競爭。在其他實施例中，如在競爭性結合分析中所量測，若過量測試抗體抑制參考抗體之結合至少約55%、60%、65%、70%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之任一者，則測試抗體與參考抗體競爭。藉由競爭分析(競爭抗體)鑑別之抗體包括與參考抗體結合於相同抗原決定基之抗體及結合於足夠靠近參考抗體所結合之抗原決定基之相鄰抗原決定基以發生位阻的抗體。參考抗體可為具有類似於治療性抗體候選物之功能的市售單株抗體、在功能上與相關靶蛋白相互作用的多株抗體或由可在公共域中獲得之序列重建構之抗體。例如(但不限於)，結合於TIGIT之參考抗體包含具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列的重鏈及具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列的輕鏈。

【0072】 如本文所用，術語「特異性結合」及「特異性結合於」係指可量測及可再現的相互作用，諸如抗原(例如TIGIT)與抗體之間的結合。例如，特異性結合於抗原之抗體為以比其與其他抗原結合更高之親和力、親和性、容易性及/或更長持續時間結合此目標的抗體。抗原之親和力及分子之平衡解離常數(KD)成反比。藉由低KD值量測對抗原之高親和力。如本文所使用，藉由表面電漿子共振來量測，特異性結合於抗原之抗體具有10^{-6} M或更低、或者10^{-7} M或更低、或者10^{-8} M或更低、或者10^{-9} M或更低、或者10^{-10} M或更低、或者10^{-11} M或更低之針對抗原的KD；或

KD在10^{-6} M至10^{-13} M、或10^{-9} M至10^{-13} M、或10^{-9} M至10^{-12} M、或10^{-10} M至10^{-13} M、或10^{-10} M至10^{-12} M、或10^{-11} M至10^{-13} M、或10^{-10} M至10^{-11} M或10^{-11} M至10^{-12} M範圍內。在一個實施例中，術語「特異性結合」係指其中分子結合於特定多肽或特定多肽上之抗原決定基而基本上不結合於任何其他多肽或多肽抗原決定基的結合。

【0073】如本文所使用，「個體(individual)」或「個體(subject)」包括動物，諸如人類(例如人類個體)及非人類動物。在一些實施例中，「個體(individual)」或「個體(subject)」為在醫師護理下之患者。因此，個體可為患有或患有、具有患病風險或疑似患有相關疾病(例如癌症)及/或疾病之一或多個症狀的人類患者或個體。個體亦可為在診斷時或稍後診斷患有相關病況風險之個體。術語「非人類動物」包括所有脊椎動物，例如哺乳動物，例如嚙齒動物，例如小鼠、非人類靈長類動物及其他哺乳動物，諸如綿羊、狗、牛、雞，及非哺乳動物，諸如兩棲動物、爬行動物等。

【0074】如本文所用，「對應於(corresponds to)」或係「對應於(corresponding to)」參考胺基酸序列之胺基酸殘基或「與」參考胺基酸序列之胺基酸殘基呈「對應關係(correspondence with)」的相關胺基酸序列之胺基酸殘基指示，相關序列之胺基酸殘基係處於與參考胺基酸序列中所計數之殘基同源或等效的位置處。熟習此項技術者可以判定諸如TIGIT多肽之多肽中之特定胺基酸殘基位置是否對應於同源參考序列之胺基酸殘基位置。例如，TIGIT多肽之序列可使用已知技術(例如，基本局部比對檢索工具(basic local alignment search tool；BLAST)、ClustalW2、基於結構之序列比對程式(STRAP)或其類似者)與參考序列比對。另外，可以使

用參考序列之晶體結構座標來幫助測定同源多肽殘基之三維結構(Stengel等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**:5399-5404, 2012)。在另一態樣中，可藉由在三級結構水準測定同源性來鑑別等效殘基。使用此類方法，TIGIT多肽變異體之胺基酸殘基可根據參考序列之相應胺基酸殘基位置編號進行編號。例如，可以使用SEQ ID NO: 80之胺基酸序列來確定相關TIGIT變異體或抗原決定基之各胺基酸殘基的胺基酸殘基位置編號。在一些實施例中，若一個胺基酸序列共用至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性，則其對應於另一胺基酸序列。

【0075】 出於將胺基酸取代分類為保守或非保守之目的，將胺基酸如下分組：I組(疏水性側鏈)：met、ala、val、leu、ile；II組(中性親水性側鏈)：cys、ser、thr；III組(酸性側鏈)：asp、glu；IV組(鹼性側鏈)：asn、gln、his、lys、arg；V組(影響鏈取向之殘基)：gly、pro；以及VI組(芳族側鏈)：trp、tyr、phe。保守取代涉及在相同類別中之胺基酸之間之取代。非保守取代構成此等類別中之一者之一員向另一者之一員之更換。

【0076】 藉由Kabat編號規約最大限度地比對抗體序列來判定序列一致性百分比。在比對之後，若本文抗體區域(例如，重鏈或輕鏈之整個成熟可變區)與參考抗體之同一區進行比較，則本文抗體區與參考抗體區之間的序列一致性百分比為由本文抗體區及參考抗體區兩者中之同一胺基酸佔據之位置數除以兩個區域之對比位置之總數目(不計數間隙)，乘以100以轉換為百分比。

【0077】「包含」或「包括」或其任何文法變體、一或多種所列舉要素之組合物或方法可包括未特定列舉之其他要素。例如，包括抗體之組合物可單獨或與其他成分組合地含有抗體。

【0078】在數值前存在術語「約」之情況下，本文呈現特定範圍。本文所使用之術語「約」具有其近似之原始含義，且將針對其之前的準確數值以及接近或近似術語之前的數值提供文字支持。在確定數值是否接近或近似特定敍述之數值時，接近或近似未敍述之數值可為在呈現其之上下文中提供特定敍述之數值的實質性等效物的數值。例如，若近似程度自上下文並非以其他方式明確，則「約」意謂在所提供之值之加或減10%內，或捨入至最接近顯著數字，在所有情況下包括所提供之值。在提供範圍的情況下，其包含邊界值。

【0079】如本文所用，術語「基本上」及其任何語法變體為廣義術語且其一般意義上使用，包括(但不限於)幾乎完全或在很大程度上，但不完全。例如，術語可指可不為全數值之100%的數值，其中數值可比全數值小於0.1%、小於0.5%、小於約1%、小於約2%、小於約3%、小於約4%、小於約5%、小於約6%、小於約7%、小於約8%、小於約9%、小於約10%、小於約11%、小於約12%、小於約13%、小於約14%、小於約15%、小於約16%、小於約17%、小於約18%、小於約19%或小於約20%。例如，當本文抗體或其抗原結合片段與相應之參考抗體或其抗原結合片段具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列一致性時，本文抗體或其抗原結合片段可基本上來自相應之參考抗體或其抗原結合片段。在另一實例中，當本文抗體中

之CDR與參考抗體中之相應CDR具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%序列一致性時，本文抗體中之CDR可基本上來自參考抗體中之相應CDR。在另一實例中(但不限於)，關於參考抗體中之相應CDR當在本文抗體之CDR中取代、缺失或添加不超過兩個胺基酸時，本文抗體中之CDR可基本上來自參考抗體中之相應CDR。

【0080】 應瞭解，出於清晰性在各別實施例之上下文中描述的本發明之某些特徵亦可在單一實施例中組合提供。反之，為簡潔起見而在單一實施例之上下文中描述的本發明之各種特徵亦可分開地或以任何適合之子組合提供。關於本發明之實施例之所有組合特定地由本發明包涵且揭示於本文中，正如同個別地及明確地揭示每一個組合一般。另外，各種實施例及其要素之所有子組合亦由本發明特定涵蓋且在本文中揭示，如同單獨且明確地在本文中揭示每一此類子組合一般。

【0081】

II. 目標分子

除非另外指示，否則TIGIT意謂人類TIGIT (hTIGIT)。食蟹獼猴(Cyno) TIGIT或cTIGIT係指食蟹獼猴(cynomolgus monkey) TIGIT。

【0082】 例示性hTIGIT序列經指定為Swiss-Prot寄存編號Q495A1。完整的hTIGIT序列具有244個胺基酸(SEQ ID NO: 80)，其中胺基酸1-21係信號肽且22-244構成成熟蛋白(SEQ ID NO: 81)。大約殘基22-141構成hTIGIT之胞外域(SEQ ID NO: 82)。大約殘基142-162構成hTIGIT之跨膜域，且大約殘基163-244構成hTIGIT之細胞質域。在一些

實施例中，胞外域hTIGIT經HIS標記(SEQ ID NO: 83)。例示性食蟹獼猴TIGIT序列經指定為Swiss-Prot A0A2K5UW92。完整的食蟹獼猴TIGIT序列具有312個胺基酸(SEQ ID NO: 84)。在一些實施例中，食蟹獼猴TIGIT之胞外域經HIS標記(SEQ ID NO: 85)。

【0083】 除非另外指示，否則CD155係指此蛋白質之人類形式。人類CD155之例示性人類序列經指定為Swiss-Prot P15151，其係417個胺基酸之蛋白質，其中大約殘基1-20係信號肽，21-343構成胞外域(SEQ ID NO: 86)，344-367構成跨膜域，且368-417構成細胞質域。

【0084】 除非根據上下文明顯不同，否則提及以上蛋白質中之一者時至少意謂蛋白質之胞外域且通常係除可裂解信號肽以外的完整蛋白質。

【0085】

III.本發明之抗體

A. 結合特異性及功能特性

本發明提供特異性結合於TIGIT，更特定言之結合於TIGIT蛋白質之胞外域內的抗原決定基的抗體。在某些實施例中，藉由表面電漿子共振(SPR)量測，本發明之抗TIGIT抗體具有針對TIGIT之10^{-8} M或更低(例如10^{-8}、10^{-9}、10^{-10}等)的KD。在各種實施例中，本發明之抗TIGIT抗體具有針對TIGIT之以下範圍內的KD：約1×10^{-9} M至約1×10^{-13} M、或約1×10^{-9} M至約1×10^{-12} M、或約1×10^{-10} M至約1×10^{-13} M、或約1×10^{-10} M至約1×10^{-12} M、或約1×10^{-11} M至約1×10^{-13} M、或約1×10^{-10} M至約1×10^{-11} M、或約1×10^{-11} M至約1×10^{-12} M。命名為21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16及28O12之抗體為九種此類例示性小鼠抗體。命名為Ch22B22、Ch21B16、Ch28O12、Ch5J24、Ch21B9、

Ch24F8及Ch30M18之抗體為七個此類例示性嵌合體抗體。命名為Hu24F8.1、Hu24F8.2、Hu24F8.3及Hu24F8.4之抗體為例示性人類化抗體。重鏈及輕鏈成熟可變區之序列及小鼠及人類化抗體之CDR分別展示於**表1**及**表2**中。

表1. 重鏈及輕鏈成熟可變區之序列

抗體	重鏈可變區	輕鏈可變區
21F8	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2
30M18	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 4
24F8	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6
5J24	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 8
21B9	SEQ ID NO: 9	SEQ ID NO: 10
22B22	SEQ ID NO: 11	SEQ ID NO: 12
28P24	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14
21B16	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 16
28O12	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 12
Hu24F8.1	SEQ ID NO: 76	SEQ ID NO: 77
Hu24F8.2	SEQ ID NO: 78	SEQ ID NO: 77
Hu24F8.3	SEQ ID NO: 78	SEQ ID NO: 79
Hu24F8.4	SEQ ID NO: 76	SEQ ID NO: 79

表2. 重鏈及輕鏈CDR之序列(Kabat定義)

抗體	HC-CDR1 (SEQ ID NO)	HC-CDR2 (SEQ ID NO)	HC-CDR3 (SEQ ID NO)	LC-CDR1 (SEQ ID NO)	LC-CDR2 (SEQ ID NO)	LC-CDR3 (SEQ ID NO)
21F8	36	37	38	39	40	41
30M18	42	43	44	45	46	47
24F8	48	49	50	51	52	53
5J24	54	55	56	57	58	59
21B9	60	61	62	63	64	65
22B22	60	66	67	63	68	65
28P24	69	55	70	71	68	65
21B16	72	73	67	63	68	65
28O12	74	75	67	63	68	65

【0086】本發明之一些抗體與命名為21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16或28O12之抗體或命名為Hu24F8.1、Hu24F8.2、Hu24F8.3或Hu24F8.4之抗體結合至相同或重疊抗原決定基。具有此類結合特異性之其他抗體可藉由用包括所需抗原決定基之TIGIT或其部分使小鼠免疫，且篩選用於結合於TIGIT之胞外域的所

得抗體，視情況與21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16、28O12、Hu24F8.1、Hu24F8.2、Hu24F8.3或Hu24F8.4競爭而產生。亦可針對TIGIT抗原之誘變形式篩選抗體以鑑別與突變變化集合具有相同或類似結合概況的抗體，如21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16、28O12、Hu24F8.1、Hu24F8.2、Hu24F8.3或Hu24F8.4。突變可以係在TIGIT抗體之整個胞外域中或在已知抗原決定基所存在的部分中，同時地或以間隔得較開的時間間隔用丙胺酸(若丙胺酸已經存在，則絲胺酸)系統置換取代一種殘基。在一些實施例中，一些本發明之抗體結合於以下TIGIT之抗原決定基殘基中之至少一者：SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。在一些實施例中，一些本發明之抗體結合於以下TIGIT之抗原決定基殘基中之兩個、三個、四個、五個或六個：SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。在一些實施例中，一些本發明之抗體結合於以下TIGIT之抗原決定基殘基：T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。在一些實施例中，抗TIGIT抗體結合於抗原決定基，該抗原決定基包括至少以下TIGIT之殘基：SEQ ID NO: 80之D72，及SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、S80及K82中之至少一者。在一些實施例中，抗TIGIT抗體結合於抗原決定基，該抗原決定基包括至少以下TIGIT之殘基：SEQ ID NO: 80之E60及D72，及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、S80及K82中之至少一者。在一些實施例中，抗TIGIT抗體結合於抗原決定基，該抗原決定基包括至少以下TIGIT之殘基：SEQ ID NO: 80之D72及K82，及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60及S80中之至少一者。在一些實施例中，抗TIGIT抗體結合於抗原決定基，該抗原決定基

包括至少以下TIGIT之殘基：SEQ ID NO: 80之E60、D72及K82，及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58及S80中之至少一者。

【0087】具有所選鼠類抗體(例如21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16或28O12)或所選人類化抗體(例如Hu24F8.1、Hu24F8.2、Hu24F8.3或Hu24F8.4)之結合特異性的抗體亦可使用噬菌體呈現方法之變異體產生。參見Winter，WO 92/20791。此方法尤其適合於產生人類抗體。在此方法中，使用所選鼠類抗體之重鏈或輕鏈可變區作為起始材料。例如，若選擇輕鏈可變區作為起始物質，則構築如下噬菌體文庫，其中各成員呈現相同輕鏈可變區(亦即，鼠類起始物質)及不同重鏈可變區。重鏈可變區例如可以自重排的人類重鏈可變區之文庫獲得。選擇針對TIGIT展示強特異性結合(例如，至少10^8或至少10^9 M^{-1})的噬菌體。此噬菌體之重鏈可變區隨後充當用於構築另一噬菌體文庫的起始材料。在此文庫中，各噬菌體呈現相同重鏈可變區(亦即，自第一呈現文庫鑑別的區域)及不同輕鏈可變區。輕鏈可變區例如可以自重排的人類可變輕鏈區之文庫獲得。再次選擇針對TIGIT顯示強特異性結合的噬菌體。所得抗體通常具有與鼠類起始材料相同或類似的抗原決定基特異性。

【0088】一些抗體具有完全或基本上來自mAb 21F8之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。一些抗體具有完全或基本上來自mAb 30M18之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。一些抗體具有完全或基本上來自mAb 24F8之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。一些抗

體具有完全或基本上來自mAb 5J24之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。一些抗體具有完全或基本上來自mAb 21B9之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。一些抗體具有完全或基本上來自mAb 22B22之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。一些抗體具有完全或基本上來自mAb 28P24之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。一些抗體具有完全或基本上來自mAb 21B16之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。一些抗體具有完全或基本上來自mAb 28O12之包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。CDR可以由任何習知定義進行定義，習知定義包括Kabat、Chothia、Kabat與Chothia複合、AbM或Contact定義，如下**表3**中所示：

表3.

環	**Kabat**	**AbM**	**Chothia**	**連接**
L1	L-24--L34	L24--34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--l56	L50---L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--97	L89--L97	L89--L96
H1	H31--H35B (Kabat編號)	H26--H35b	H26--H32..34	H30--H35B
H1	H31-H35 (Chothia編號)	H26--H35	H26--H32	H30--H35
H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H10

【0089】其他抗體可藉由編碼例示性抗體之重鏈及輕鏈之cDNA之突變誘發獲得，該等抗體為諸如21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、

22B22、28P24、21B16或28O12。在成熟重鏈及/或輕鏈可變區之胺基酸序列中至少與21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16或28O12具有約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之任一者的一致性且保持其功能特性之抗體，及/或藉由少數功能上不連貫的胺基酸取代(例如保守取代)、缺失或插入而與各別抗體不同之抗體亦包括於本發明中。對於結合可能重要的可變區構架中之胺基酸可以如下文在關於人類化的部分中所描述般鑑別。亦包括具有至少一個且在一些實施例中具有所有六個如Kabat所定義之CDR的抗體，該CDR與21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16或28O12之相應CDR具有約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%中之任一者的一致性。

【0090】在一些實施例中，抗體具有以下特徵中之一或多者：(i)抑制人類TIGIT與人類CD155之結合；(ii)抑制TIGIT與諸如CD112及CD113之其他配體之結合；(iii)增加抗原特異性T細胞反應；(iv)活化自然殺手細胞；(v)刺激固有T細胞活化；及(vi)刺激T細胞及免疫系統之其他細胞的一或多種免疫刺激性細胞介素之產生及/或減少一或多種免疫抑制性細胞介素之產生。

【0091】在一些實施例中，本文所描述之抗體完全或部分抑制TIGIT與CD155之結合。如**實例1**中所量測，本發明之抗TIGIT抗體可以約0.1 nM至約10 nM、或約0.1 nM至約8 nM、或約0.1 nM至約5 nM、或約0.1 nM至約4 nM、或約0.1 nM至約3 nM、或約0.1 nM至約2 nM或約0.1

nM至約1 nM之半最大抑制濃度(IC50)抑制此類相互作用。在某些實施例中，如**實例1**中所量測，一些本發明之抗TIGIT抗體可以約0.1 nM至約2 nM或約0.2 nM至約2 nM之IC50抑制TIGIT與CD155之結合。在某些實施例中，如**實例1**中所量測，一些本發明之抗TIGIT抗體可以約0.2 nM至約2 nM、約0.2 nM至約0.8 nM、約0.4 nM至約0.8 nM或約0.6 nM至約0.8 nM之IC50抑制TIGIT與CD155之結合。如**實例1**中所量測，一些抗體可在約25至300 ng/ml、25至75 ng/ml、25至50 ng/ml、40至75 ng/ml、50至75 ng/ml、50至90 ng/ml、50至100 ng/ml、75至100 ng/ml、50至150 ng/ml、75至175 ng/ml、100至200 ng/ml、125至225 ng/ml、100至250 ng/ml、150至300 ng/ml、175至250 ng/ml、200至300 ng/ml、25至275 ng/ml、250至300 ng/ml、49+/-10% ng/ml、65+/-10% ng/ml或76+/-10% ng/ml中之任一者的半最大抑制濃度(IC50)下抑制此類相互作用。在其他實施例中，抗體可以至少約25 ng/ml、50 ng/ml、75 ng/ml、100 ng/ml、125 ng/ml、150 ng/ml、175 ng/ml、200 ng/ml、225 ng/ml、250 ng/ml、275 ng/ml或300 ng/ml中之任一者或更大的IC_{50}完全地或部分地抑制TIGIT與CD155之結合，包括落在此等值之間的濃度。另外，一些抗體可使抗原特異性T細胞反應增加1.5至3倍，諸如約1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9或3倍或更多倍中之任一者。或者或另外，一些抗體可將NK細胞及/或T細胞產生的1、2、3或所有IL-2、IL-6、TNFα及IFNγ增加1.5至3倍，諸如約1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9或3倍中之任一者或更大。或者或另外，一些抗體可使固有T細胞活化增加1.5至3倍，諸如約1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、

2.7、2.8、2.9或3倍中之任一者或更大。或者或另外，一些抗體可以抑制癌症或傳染病，如動物模型或臨床試驗中所示。將人類癌細胞注射至諸如小鼠或大鼠之免疫缺陷實驗室動物中的動物癌症模型係廣泛可用的。

【0092】在例示性實施例中，抗體特異性結合於TIGIT且包含完全或實質上來自抗體24F8的包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3之成熟重鏈可變區及包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3之成熟輕鏈區。在各種實施例中，抗體可(i)具有藉由表面電漿子共振量測之約0.01×10^{-11} M至約100×10^{-11} M、約0.1×10^{-11} M至約100×10^{-11} M、約0.1×10^{-11} M至約10×10^{-11} M、約1×10^{-11} M至約100×10^{-11} M的平衡結合常數(KD)，及/或(ii)以約0.2 nM至約2 nM、約0.2 nM至約0.8 nM、約0.4 nM至約0.8 nM或約0.6 nM至約0.8 nM之半最大抑制劑濃度(IC50)阻斷可溶性人類CD155配體與細胞表面人類TIGIT之結合，如**實例1**中所量測。或者及或除以上個別結合及阻斷特性或其組合之外，在一些實施例中，抗體結合於包括至少以下TIGIT殘基之抗原決定基：(i) SEQ ID NO: 80之D72及SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、S80及K82中之至少一者；(ii) SEQ ID NO: 80之E60及D72及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、S80及K82中之至少一者；(iii) SEQ ID NO: 80之D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60及S80中之至少一者；(iv) SEQ ID NO: 80之E60、D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58及S80中之至少一者；或(v) SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。

【0093】相對於起始小鼠抗體，人類化或嵌合抗體延長了活體內半衰期。例如在人類中，所得半衰期可為10至50天。半衰期可以藉由藥物

動力學研究量測，諸如Kim等人, *Eur J of Immunol* 24:542 (1994)所描述。

【0094】

B. 非人類抗體

針對TIGIT之其他非人類抗體(例如鼠類、天竺鼠、靈長類動物、兔、雞或大鼠)之產生可以藉由例如用TIGIT或其片段或攜帶TIGIT之細胞對動物進行免疫來實現。參見Harlow及Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (CSHP NY, 1988) (出於所有目的以引用的方式併入)。此類免疫原可以藉由肽合成或藉由重組性表現自天然來源獲得。視情況，可以與載體蛋白質融合或以其他方式複合來投與免疫原。視情況，免疫原可以與佐劑一起投與。若干類型之佐劑可如下文所描述來使用。可使用完全弗氏佐劑(Complete Freund's adjuvant)，接著不完全佐劑進行實驗室動物之免疫接種。通常使用兔或天竺鼠來製造多株抗體。通常使用小鼠來製造單株抗體。篩選出特異性結合至TIGIT的抗體。視情況，進一步篩選結合至TIGIT之特定區域的抗體。此類篩選可以藉由測定抗體與一系列TIGIT之缺失突變體的結合且判定哪些缺失突變體結合至抗體來實現。結合可以例如藉由西方墨點法、FACS或ELISA來評定。

【0095】

C. 人類化抗體

減少或消除HAMA (人類抗小鼠(亦適用於人類抗大鼠或人類抗兔或人類抗倉鼠等)抗體)反應係合適的治療劑之臨床發展的顯著態樣。參見例如，Khaxzaeli等人, *J. Natl. Cancer Inst.* (1988), 80:937；Jaffers等人, *Transplantation* (1986), 41:572；Shawler等人, *J. Immunol.* (1985), 135:1530；Sears等人, *J. Biol. Response Mod.* (1984), 3:138；Miller等人,

Blood (1983), 62:988；Hakimi等人, *J. Immunol.* (1991), 147:1352；Reichmann等人, *Nature* (1988), 332:323；Junghans等人, *Cancer Res.* (1990), 50:1495。如本文所描述，本發明提供經人類化以使得HAMA反應減少或消除的抗體。此等抗體之變異體可以進一步使用此項技術中已知之常規方法獲得，該等方法中之一些進一步描述於下文中。

【0096】 人類化抗體係基因工程改造之抗體，其中來自非人類「供體」抗體之CDR移植至人類「受體」抗體序列中(參見，例如Queen, US 5,530,101及5,585,089；Winter, US 5,225,539；Carter, US 6,407,213；Adair, US 5,859,205、6,881,557；Foote, US 6,881,557)。受體抗體序列可為例如成熟人類抗體序列、該序列之複合、人抗體序列之共有序列或種系區序列。因此，人類化抗體為具有完全或基本上來自供體抗體之一些或所有CDR以及可變區構架序列及恆定區(若存在，則完全或基本上來自人類抗體序列)的抗體。類似地，人類化重鏈具有至少一個、兩個且通常全部三個完全或實質上來自供體抗體重鏈之CDR以及重鏈可變區構架序列及重鏈恆定區(若存在，則實質上來自人類重鏈可變區構架及恆定區序列)。類似地，人類化輕鏈具有至少一個、兩個且通常所有三個完全或基本上來自供體抗體輕鏈之CDR以及輕鏈可變區構架序列及輕鏈恆定區(若存在，則基本上來自人類輕鏈可變區構架及恆定區序列)。此處如本申請案其他地方一樣，當各別CDR之間至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之相應殘基(如由Kabat所定義)相同時，本文抗體中之CDR基本上來自參考抗體中之相應CDR；然而，當各別CDR之間至少約65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、

73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之相應殘基(如由Kabat所定義)相同時，本文抗體中之如由Kabat所定義的CDR H2基本上來自參考抗體中之相應CDR。當至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之由Kabat定義的相應殘基相同時，抗體鏈之可變區構架序列或抗體鏈之恆定區基本上分別來自人類可變區構架序列或人類恆定區。

【0097】雖然人類化抗體常常併入了所有六個來自非人類(例如小鼠)抗體之CDR (諸如由Kabat所定義)，但是其亦可以製成所含來自非人類抗體之CDR不到全部的CDR(例如，至少3、4或5個) (例如，Pascalis等人, *J. Immunol.* 169:3076, 2002；Vajdos等人, *Journal of Molecular Biology*, 320: 415-428, 2002；Iwahashi等人, *Mol. Immunol.* 36:1079-1091, 1999；Tamura等人, *Journal of Immunology*, 164:1432-1441, 2000)。

【0098】在一些抗體中，在人類化抗體中僅需要一部分CDR來保留結合，亦即結合所需之CDR殘基的子組，稱為SDR。不接觸抗原且不在SDR中的CDR殘基可以基於先前研究(例如常常不需要CDR H2中之殘基H60-H65)、根據處於Chothia高變環外部之Kabat CDR的區域(Chothia, *J. Mol. Biol.* 196:901, 1987)、藉由分子模型化及/或憑經驗、或如Gonzales等人, *Mol. Immunol.* 41: 863, 2004中所描述般鑑別。在此類人類化抗體中，在不存在一或多個供體CDR殘基或省略整個供體CDR的位置處，佔據該位置之胺基酸可為佔據接受體抗體序列中之對應位置(藉由Kabat編

號)的胺基酸。在CDR中包括的受體於供體胺基酸之此類取代的數目反映了競爭性考慮因素之平衡。此類取代對於減少人類化抗體中之小鼠胺基酸之數目可能有利，且因此，對於降低潛在免疫原性可能有利。然而，取代亦會導致親和力改變，且可避免親和力顯著降低。CDR內取代之位置及待取代之胺基酸亦可以憑經驗選擇。

【0099】 雖然受體之序列可以與所選人類構架序列一致，但是無論其來自人類免疫球蛋白抑或人類共同構架，本發明均涵蓋受體序列可以包括相對於人類免疫球蛋白序列或人類共同構架序列預先存在的胺基酸取代。此等預先存在的取代可為最少的；通常相對於人類免疫球蛋白序列或共同構架序列僅四個、三個、兩個或一個胺基酸差異。

【0100】 人類受體抗體序列可以視情況選自許多已知的人類抗體序列，從而在人類受體序列可變區構架與供體抗體鏈之相應可變區構架之間得到高序列一致性程度(例如，65-85%一致性)。

【0101】 某些自人類可變區構架殘基之胺基酸可基於其對CDR構形及/或結合於抗原之可能影響來選擇。藉由模型化、特定位置處之胺基酸之特徵的檢查或特定胺基酸之取代或突變誘發之作用的經驗觀察來研究此類可能的影響。

【0102】 例如，當非人類可變區構架殘基與所選人類可變區構架殘基之間的胺基酸不同時，當合理地預期胺基酸如下時，人類構架胺基酸可以經來自非人類抗體之等效構架胺基酸取代：

(1) 直接非共價結合抗原，

(2) 與CDR區相鄰，

(3) 以其他方式與CDR區相互作用(例如，在CDR區之約6 Å內)。

【0103】在彼位置之其他取代候選者係對於人類免疫球蛋白而言不尋常的受體人類構架胺基酸。此等胺基酸可經來自非人類供體抗體之同等位置之胺基酸或來自更典型人類免疫球蛋白之同等位置之胺基酸取代。在彼位置之其他取代候選者係對於人類免疫球蛋白而言不尋常的受體人類構架胺基酸。

【0104】在一些實施例中，人類化抗TIGIT抗體具有成熟重鏈可變區，該成熟重鏈可變區包括包含具有零至兩個胺基酸取代或缺失之SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的CDR1，包含具有零至兩個胺基酸取代或缺失之SEQ ID NO: 49之胺基酸序列的CDR2，包含具有零至兩個胺基酸取代或缺失之SEQ ID NO: 50之胺基酸序列的CDR3，及具有與GenBank寄存編號AAV40102.1之構架區或GenBank寄存編號ADX65334.1之構架區至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的構架區；且具有成熟輕鏈可變區，該成熟輕鏈可變區包括包含具有零至兩個胺基酸取代或缺失之SEQ ID NO: 51之胺基酸序列的CDR1，包含具有零至兩個胺基酸取代或缺失之SEQ ID NO: 52之胺基酸序列的CDR2，包含具有零至兩個胺基酸取代或缺失之SEQ ID NO: 53之胺基酸序列的CDR3，及具有與GenBank寄存編號ACY78416.1之構架區或GenBank寄存編號ADU32611.1之構架區至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的構架區。AAV40102.1、ADX65334.1、ACY78416.1及ADU32611.1之構架區根據Kabat定義確定，參見**實例2**或參見含有AAV40102.1、ADX65334.1、

ACY78416.1及ADU32611.1及供體CDR之構架區的SEQ ID NO: 76-79。在一些實施例中，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區之至少一部分且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區之至少一部分。在一些實施例中，對於全長抗體之表現，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區。適合之恆定區進一步詳細描述於**章節III(F)**中。在上述某些實施例中，重鏈恆定區具有功能性FcγR結合能力。在又其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 94組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在上述某些實施例中，重鏈恆定區具有降低的功能性FcγR結合能力。在其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 97組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在又其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 101組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在上述某些實施例中，重鏈恆定區具有增強的功能性FcγR結合能力。在其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 99組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。

【0105】 在一些實施例中，人類化抗TIGIT抗體具有成熟重鏈可變區，該成熟重鏈可變區與SEQ ID NO: 76具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或小於100%的一致性，及成熟輕鏈可變區，該成熟輕鏈可變區與SEQ ID NO: 77具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或小於100%的一致性。在一些實施例中，任何變異發生在除鑑定為可能對結合重要的殘基之外的可變區構架殘基處。在一些實施例中，任何變異係保守胺基酸取代。在一些實

施例中，抗體包括具有SEQ ID NO: 76之序列的成熟重鏈可變區及具有SEQ ID NO: 77之序列的成熟輕鏈可變區。本發明之Hu24F8.1抗體包含具有SEQ ID NO: 76之序列的成熟重鏈可變區及具有SEQ ID NO: 77之序列的成熟輕鏈可變區。在上述一些實施例中，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區之至少一部分且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區之至少一部分。在一些實施例中，對於全長抗體之表現，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區。適合之恆定區進一步詳細描述於**章節III(F)**中。在上述某些實施例中，重鏈恆定區可誘導Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在又其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 94組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區不誘導Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。

【0106】在一些實施例中，人類化抗TIGIT抗體具有成熟重鏈可變區，該成熟重鏈可變區與SEQ ID NO: 78具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或小於100%的一致性，及成熟輕鏈可變區，該成熟輕鏈可變區與SEQ ID NO: 77具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或小於100%的一致性。在一些實施例中，任何變異發生在除鑑定為可能對結合重要的殘基之外的可變區構架殘基處。在一些實施例中，任何變異係保守胺基酸取代。在一些實

施例中，抗體包括具有SEQ ID NO: 78之序列的成熟重鏈可變區及具有SEQ ID NO: 77之序列的成熟輕鏈可變區。本發明之Hu24F8.2抗體包含具有SEQ ID NO: 78之序列的成熟重鏈可變區及具有SEQ ID NO: 77之序列的成熟輕鏈可變區。在上述一些實施例中，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區之至少一部分且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區之至少一部分。在一些實施例中，對於全長抗體之表現，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區。適合之恆定區進一步詳細描述於**章節III(F)**中。在上述某些實施例中，重鏈恆定區可誘導Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在又其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 94組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區不誘導Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在一些實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 97組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 101組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區誘導增強之Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在一些實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 99組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。

【0107】 在一些實施例中，人類化抗TIGIT抗體具有成熟重鏈可變區，該成熟重鏈可變區與SEQ ID NO: 76具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、

94%、95%、96%、97%、98%、99%或小於100%的一致性，及成熟輕鏈可變區，該成熟輕鏈可變區與SEQ ID NO: 79具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或小於100%的一致性。在一些實施例中，任何變異發生在除鑑定為可能對結合重要的殘基之外的可變區構架殘基處。在一些實施例中，任何變異係保守胺基酸取代。在一些實施例中，抗體包括具有SEQ ID NO: 76之序列的成熟重鏈可變區及具有SEQ ID NO: 79之序列的成熟輕鏈可變區。本發明之Hu24F8.3抗體包含具有SEQ ID NO: 78之序列的成熟重鏈可變區及具有SEQ ID NO: 79之序列的成熟輕鏈可變區。在上述一些實施例中，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區之至少一部分且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區之至少一部分。在一些實施例中，對於全長抗體之表現，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區。適合之恆定區進一步詳細描述於**章節III(F)**中。在上述某些實施例中，重鏈恆定區可誘導Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在又其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 94組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區不誘導Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在一些實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 97組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 101組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區誘導增強之Fcγ受體(FcγR)介

導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在一些實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 99組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。

【0108】在一些實施例中，人類化抗TIGIT抗體具有成熟重鏈可變區，該成熟重鏈可變區與SEQ ID NO: 78具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或小於100%的一致性，及成熟輕鏈可變區，該成熟輕鏈可變區與SEQ ID NO: 79具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或小於100%的一致性。在一些實施例中，任何變異發生在除鑑定為可能對結合重要的殘基之外的可變區構架殘基處。在一些實施例中，任何變異係保守胺基酸取代。在一些實施例中，抗體包括具有SEQ ID NO: 78之序列的成熟重鏈可變區及具有SEQ ID NO: 79之序列的成熟輕鏈可變區。本發明之Hu24F8.4抗體包含具有SEQ ID NO: 76之序列的成熟重鏈可變區及具有SEQ ID NO: 79之序列的成熟輕鏈可變區。在上述一些實施例中，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區之至少一部分且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區之至少一部分。在一些實施例中，對於全長抗體之表現，成熟重鏈可變區係連接至重鏈恆定區且成熟輕鏈可變區係連接至輕鏈恆定區。適合之恆定區進一步詳細描述於**章節III(F)**中。在上述某些實施例中，重鏈恆定區可誘導Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在又其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 94組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組

成。在其他實施例中，重鏈恆定區不誘導Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在一些實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 97組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 101組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。在其他實施例中，重鏈恆定區誘導增強之Fcγ受體(FcγR)介導之信號傳導，根據製造商說明書在市售抗體依賴性細胞介導之毒性報告生物分析套組中進行量測。在一些實施例中，重鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 99組成，且輕鏈恆定區包含或由SEQ ID NO: 95組成。

【0109】在以上中之每一者之其他實施例中，人類化抗TIGIT抗體可(i)具有藉由表面電漿子共振量測之約0.01×10^{-11} M至約100×10^{-11} M、約0.1×10^{-11} M至約100×10^{-11} M、約0.1×10^{-11} M至約10×10^{-11} M、約1×10^{-11} M至約100×10^{-11} M或約1×10^{-11} M至約10×10^{-11} M的平衡結合常數(KD)，及/或(ii)以約0.2 nM至約2 nM、約0.2 nM至約0.8 nM、約0.4 nM至約0.8 nM或約0.6 nM至約0.8 nM之半最大抑制劑濃度(IC50)阻斷可溶性人類CD155配體與細胞表面人類TIGIT之結合，如**實例1**中所量測。或者及或除以上個別結合及阻斷特性或其組合之外，在一些實施例中，人類化抗TIGIT抗體結合於包括至少以下TIGIT殘基之抗原決定基：(i) SEQ ID NO: 80之D72及SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、S80及K82中之至少一者；(ii) SEQ ID NO: 80之E60及D72及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、S80及K82中之至少一者；(iii) SEQ ID NO: 80之D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60及S80中之至少一者；(iv) SEQ ID NO: 80之E60、D72及K82及視情況存在之

SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58及S80中之至少一者；或(v) SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。

【0110】

D. 嵌合抗體及面飾化抗體

本發明進一步提供非人類抗體之嵌合及面飾化形式，尤其實例之21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16及28O12抗體。

【0111】 嵌合抗體為非人類抗體(例如小鼠)之輕鏈及重鏈之成熟可變區與人類輕鏈及重鏈恆定區組合的抗體。此類抗體基本上或完全保留非人類抗體之結合特異性，且係約三分之二的人類序列。

【0112】 面飾化抗體係一種類型之人類化抗體，其保留一些且通常所有的CDR及非人類抗體之非人類可變區構架殘基中之一些，但用來自人類抗體序列之相應位置的殘基置換可能有助於B細胞或T細胞抗原決定基的其他可變區構架殘基(例如，暴露的殘基) (Padlan, *Mol. Immunol.* 28:489, 1991)。結果為其中CDR完全或基本上來自非人類抗體且非人類抗體之可變區構架係藉由取代而變得更像人類之抗體。本發明中包括21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16或28O12抗體之面飾化形式。

【0113】 在一些實施例中，TIGIT嵌合抗體係具有小鼠可變域及人類IgG1/κ恆定域之小鼠人類嵌合體。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠21F8VH (SEQ ID NO: 1)及21F8VL (SEQ ID NO: 2)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch21F8)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠30M18VH (SEQ ID NO: 3)及30M18VL (SEQ ID

NO: 4)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch30M18)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠24F8VH (SEQ ID NO: 5)及24F8VL (SEQ ID NO: 6)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch24F8)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠5J24VH (SEQ ID NO: 7)及5J24VL (SEQ ID NO: 8)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch5J24)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠21B9VH (SEQ ID NO: 9)及21B9VL (SEQ ID NO: 10)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch21B9)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠22B22VH (SEQ ID NO: 11)及22B22VL (SEQ ID NO: 12)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch22B22)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠28P24VH (SEQ ID NO: 13)及28P24VL (SEQ ID NO: 14)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch28P24)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠21B16VH (SEQ ID NO: 15)及21B16VL (SEQ ID NO: 16)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch21B16)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。在一實施例中，TIGIT嵌合抗體為由小鼠28O12VH (SEQ ID NO: 17)及28O12VL (SEQ ID NO: 12)域及人類IgG1/κ Fab恆定域(Ch28O12)構築之嵌合體Fab mVH+mVL。

【0114】

E. 人類抗體

針對TIGIT之人類抗體藉由下文所描述之各種技術提供。藉由競爭性結合實驗、藉由上文Winter之噬菌體呈現方法或以其他方式選擇一些人類抗體以具有與特定小鼠抗體相同的抗原決定基特異性，諸如實例中所述的

小鼠單株抗體中之一者。亦可以藉由僅使用TIGIT之片段作為目標抗原，及/或藉由篩選針對TIGIT之一系列缺失突變體的抗體，針對特定抗原決定基特異性篩選人類抗體。

【0115】用於產生人類抗體之方法包括Oestberg等人, *Hybridoma* 2:361-367 (1983)；Oestberg, 美國專利第4,634,664號之三源融合瘤(trioma)方法；及Engleman等人，美國專利4,634,666，使用轉殖基因小鼠，包括人類免疫球蛋白基因(參見例如Lonberg等人, WO93/12227 (1993)；US 5,877,397、US 5,874,299、US 5,814,318、US 5,789,650、US 5,770,429、US 5,661,016、US 5,633,425、US 5,625,126、US 5,569,825、US 5,545,806；*Nature* 148, 1547-1553 (1994)；*Nature Biotechnology* 14, 826 (1996)；Kucherlapati, WO 91/10741 (1991))及噬菌體呈現方法(參見例如Dower等人, WO 91/17271及McCafferty等人, WO 92/01047；US 5,877,218、US 5,871,907、US 5,858,657、US 5,837,242、US 5,733,743及US 5,565,332)。

【0116】

F. 恆定區之選擇

嵌合抗體、人類化(包括面飾化)抗體或人類抗體之重鏈及輕鏈可變區可各自與人類恆定區之至少一部分連接。在一些實施例中，以上章節中所描述之重鏈可變域係連接至人類重鏈恆定區之一部分且以上章節中所描述之輕鏈可變域係連接至人類輕鏈恆定區之一部分。在一些實施例中，以上章節中所描述之重鏈可變域係連接至人類重鏈恆定區之一部分且以上章節中所描述之輕鏈可變域係連接至全長人類輕鏈恆定區之一部分。重鏈恆定區包括Fc (片段可結晶)區，其為與細胞表面受體(Fc受體)及補體系統之一

些蛋白質相互作用之抗體的尾區。在一些實施例中，以上章節中所描述之重鏈可變域係連接至全長人類重鏈恆定區之一部分且以上章節中所描述之輕鏈可變域係連接至全長人類輕鏈恆定區之一部分。

【0117】恆定區(或其截斷)之選擇部分取決於是否需要效應子功能，或甚至是否需要增強。「效應子功能」係指可歸因於抗體之Fc區且視抗體同型而變化的生物活性。抗體效應子功能之非限制性實例包括：C1q結合C1錯合物及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之減量調節；及B細胞活化。人類抗體根據其重鏈分為五種同型(IgM、IgD、IgG、IgA及IgE)，其中各自提供不同功能。IgG由各自含有不同重鏈之四種人類子類別(IgG1、IgG2、IgG3及IgG4)組成。其高度同源且主要在鉸鏈區及其活化宿主免疫系統之程度上不同。例如，人類同位素IgG1及IgG3可介導補體介導之細胞毒性且人類同型IgG2及IgG4在極低含量下介導或不介導補體介導之細胞毒性。輕鏈恆定區可以為子類別λ或κ。關於針對不表現TIGIT之癌症或病原體的免疫療法，除人類IgG1及IgG3之外，亦可使用人類IgG2或IgG4或具有降低的效應子功能之減毒形式的人類IgG1。關於人類IgG4，可使用在重鏈上包括經S228P (Eu編號)工程改造之突變以防止Fab臂交換。然而，對於表現TIGIT之癌細胞(例如T細胞或NK細胞之腫瘤)的消除用於免疫抑制，可使用人類IgG1或IgG3。例如，對於表現TIGIT之癌細胞(例如一些血液科惡性疾病)之直接殺傷或免疫抑止，可使用具有Fc效應子功能之抗體(例如人類IgG1或IgG3)。人類IgG1或IgG3之適合序列為此項技術中已知且包括例如SEQ ID NO: 94及揭示於US 5,624,821中之人類IgG3。

【0118】 人類恆定區在不同個體之間顯示同種異型變異及同族同種異型(isoallotypic)變異，亦即恆定區可在不同個體中在一或多個多形位置處不同。同族同種異型與同種異型之不同之處在於識別同族同種異型之血清結合至一或多個其他同型之非多形區。提及人類恆定區時包括具有任何天然同種異型性或天然同種異型性中佔據多形位置之殘基的任何排列之恆定區。

【0119】 輕鏈及/或重鏈之胺基或羧基端處之一個或若干個胺基酸，諸如重鏈之C端離胺酸，可缺失或衍生一定比例的或全部的分子。重鏈或輕鏈之N端麩醯胺酸可經麩胺酸殘基取代以防止形成焦麩胺酸。可在恆定區中進行取代以降低或增大效應子功能，諸如補體介導之細胞毒性(CDC)或抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC) (參見，例如Winter等人，美國專利第5,624,821號；Tso等人，美國專利第5,834,597號；及Lazar等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103:4005, 2006)，或用以延長在人類中之半衰期(參見，例如Hinton等人, *J. Biol. Chem.* 279:6213, 2004)。例示性取代包括在位置250處之Gln及/或位置處428 (Eu編號)之Leu，以便提高抗體之半衰期。

【0120】 在一些實施例中，本文所描述之抗體包括如上所描述之野生型重鏈恆定區。在一些實施例中，野生型重鏈恆定區為SEQ ID NO: 94。SEQ ID NO: 92為包含SEQ ID NO: 94之野生型恆定區的例示性重鏈胺基酸序列。在其他實施例中，本文所描述之抗體具有選自變異體人類IgG1、變異體人類IgG2、變異體人類IgG3或變異體人類IgG4之野生型重鏈恆定區(或其截斷)的變異體。在一些實施例中，變異體重鏈恆定區為SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 99或SEQ ID NO: 101。SEQ ID NO: 96、

98及100為包含變異體重鏈恆定區之例示性重鏈胺基酸序列。

【0121】與不含一或多個突變之相同抗體相比，一些本發明之抗體藉由引入一或多個恆定區突變來進行工程改造，以具有降低之效應子功能，諸如CDC及ADCC或抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)。在一些實施例中，與不含突變之抗體相比，此等效應子功能中之每一者或全部降低至少50%、75%、90%或95%。其他分析由Shields等人, 2001 *J. Biol. Chem.*, 第276卷, 第6591-6604頁；Chappel等人, 1993 *J. Biol. Chem.*, 第268卷, 第25124-25131頁；Lazar等人, 2006 *PNAS*, 103; 4005-4010描述。

【0122】位置234、235、236及/或237中之任一者或全部位置的取代降低對Fcγ受體，尤其對FcγRI受體之親和力(參見例如US 6,624,821)。在一些實施例中，丙胺酸殘基用於取代，諸如L234A/L235A雙重突變以減少效應子功能。具有減少之效應子功能的其他突變組合包括L234A/L235A/G237A、E233P/L234V/L235A/ΔG236、A327G/A330S/P331S、K322A、L234A及L235A、L234F/L235E/P331S (Eu編號)。視情況，人類IgG2中之位置234、236及/或237經丙胺酸取代且位置235經麩醯胺酸取代。(參見例如US 5,624,821。) EU索引位置330及331處之補體C1q結合位點中之兩個胺基酸取代減少補體結合(參見Tao等人, *J. Exp. Med.* 178:661 (1993)及Canfield及Morrison, *J. Exp. Med.* 173:1483 (1991))。取代至位置233-236處之人類IgG1之IgG2殘基以及位置327、330及331處之IgG4殘基中大大降低ADCC及CDC (參見例如Armour KL.等人, 1999 *Eur J Immunol.* 29(8):2613-24；及Shields RL.等人, 2001. *J Biol Chem.* 276(9):6591-604)。N297A、N297Q或N297G (Eu編號)突變減少糖基化且從而降低效應子功能。

【0123】在一些實施例中，本發明之抗體可經工程改造以增強Fc效應子功能。例如，FcγR結合可藉由胺基酸工程改造增強。在一些實施例中，此可藉由取代Fc區中之一或多個胺基酸來進行。合乎需要之突變可藉由例如丙胺酸篩選或合理設計及文庫篩選來確定。可使用此等技術鑑別具有增強之與FcR之結合及增強之效應子功能的IgG變異體。或者，Fc受體區之若干突變為此項技術中已知的，例如如Smith P.等人(2012) PNAS 6181-6186中所描述。

【0124】在一些實施例中，本文所描述之抗體包括經修飾之IgG1恆定域，其與無修飾之野生型IgG1相比，增加抗體介導ADCC之能力。經修飾之IgG1域可藉由在L235V、S239D、F243L、R292P、A330L、I332E、P396L (Eu編號)中之一或多者處的胺基酸取代表徵。在其他實施例中，經修飾之IgG1域藉由在S239D、A330L及I332E (Eu編號)處之取代表徵。在一些實施例中，如本文所描述之抗體之治療有效量能夠在1、2或3小時內誘導至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%或至少65%的TIGIT表現細胞中的細胞死亡，如藉由此項技術中所描述之方法評定。

【0125】或者，糖型擾動可用於增強FcR介導之治療抗體功能。IgG1抗體上之N鍵聯之Fc糖基化對效應子功能至關重要。唾液酸化、半乳糖基化、二等分糖及岩藻糖基化均可影響IgG分子之結合及活性。可對許多不同方式進行控制治療性抗體上之糖基化模式。產生重組抗體之細胞類型及其培養條件可影響治療性抗體之糖基化及活性。此外，生物反應器條件及下游加工亦可影響聚醣微異質性。低或無岩藻糖基化抗體已展示增強Fc介導特性。藉由糖基工程改造實現岩藻糖水準之此減少的許多方式為此

項技術中所熟知。一種方式為操縱涉及抗體轉譯後修飾之酶。此可涉及葡糖苷酶之過度表現，諸如β-1-4-N-乙醯胺基葡萄糖轉移酶III，基因剔除岩藻糖基轉移酶，或使用天然缺乏岩藻糖或已突變以表現低岩藻糖基化水準之細胞株。此外，亦可以使用N鍵聯之葡糖苷酶之抑制劑，諸如栗精胺，以獲得具有IgG分子之低岩藻糖。

【0126】在一些實施例中，經胺基酸工程改造之變異體可對多種FcγR具有更廣泛增強的親和力，而經糖型工程改造之抗體可一般對增強的FcγRIIIa結合具有更特定親和力。糖型與Fc部分上之近端胺基酸相互作用且置換與Ig寡醣接觸之胺基酸可產生不同糖型結構。

【0127】

G. 重組抗體之表現

嵌合抗體、人類化(包括面飾化)抗體及人類抗體通常藉由重組表現產生。因此，本發明亦提供編碼此章節IIIA-G之抗TIGIT抗體的聚核苷酸、包含聚核苷酸的載體及包含該等載體的宿主細胞。

【0128】編碼本發明之抗TIGIT抗體的聚核苷酸可插入載體中用於擴增、表現或進一步最佳化。許多載體為可用的。在一些實施例中，載體系統包括哺乳動物、細菌、酵母系統等，且包含質體，諸如但不限於pALTER、pBAD、pcDNA、pCal、pL、pET、pGEMEX、pGEX、pCI、pCMV、pEGFP、pEGFT、pSV2、pFUSE、pVITRO、pVIVO、pMAL、pMONO、pSELECT、pUNO、pDUO、Psg5L、pBABE、pWPXL、pBI、p15TV-L、pPro18、pTD、pRS420、pLexA、pACT2.2等，及其他實驗室及可商購載體。適合載體可包括質體或病毒載體(例如，複製缺陷反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)。載體組分一般包括(但不限於)以下中之

一或多者：信號序列、複製起點、一或多個標記基因、增強子元件、啟動子(例如SV40、CMV、EF-1α)及轉錄終止序列。對於表現，重組聚核苷酸構築體通常包括可操作地連接於抗體鏈之編碼序列之表現控制序列，包括天然相關或異源啟動子區。在一些實施例中，表現控制序列係載體中能夠轉化或轉染真核宿主細胞之真核啟動子系統。一旦載體已併入至適當宿主中，宿主就維持在適合高水準表現核苷酸序列且收集及純化重組抗體的條件下。

【0129】 包含編碼本發明之抗TIGIT抗體之聚核苷酸序列的載體可引入至宿主細胞中進行選殖或基因表現。本文中適用於在載體中選殖或表現聚核苷酸序列的宿主細胞包括原核生物及真核生物細胞。適合原核生物之非限制性實例包括真細菌，諸如革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物體，例如腸內菌科(Enterobacteriaceae)，諸如埃希氏菌屬(*Escherichia*) (例如大腸桿菌)、腸桿菌屬(*Enterobacter*)、伊文氏桿菌屬(*Erwinia*)、克雷伯氏菌屬(*Klebsiella*)、變形桿菌屬(*Proteus*)、沙門氏菌屬(*Salmonella*) (例如鼠傷寒沙門桿菌(*Salmonella typhimurium*))、沙雷氏菌屬(*Serratia*) (例如黏質沙雷氏菌(*Serratia marcescans*))及志賀桿菌屬(*Shigella*)，以及桿菌(*Bacilli*)，諸如枯草芽孢桿菌(*B. subtilis*)及地衣芽孢桿菌(*B. licheniformis*)、假單胞菌屬(*Pseudomonas*)，諸如綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)，及鏈黴菌(*Streptomyces*)。除原核生物以外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物為編碼抗TIGIT抗體之載體的適合選殖或表現宿主。非限制性實例包括釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)；克魯維酵母屬(*Kluyveromyces*)宿主，諸如乳酸克魯維酵母(*K. lactis*)、脆壁克魯維酵母(*K. fragilis*) (ATCC

12,424)、保加利亞克魯維酵母(*K. bulgaricus*) (ATCC 16,045)、威克克魯維酵母(*K. wickeramii*) (ATCC 24,178)、沃爾第克魯維酵母(*K. waltii*) (ATCC 56,500)、果妮克魯維酵母(*K. drosophilarum*) (ATCC 36,906)、耐熱克魯維酵母(*K. thermotolerans*)及馬克斯克魯維酵母(*K. marxianus*)；耶氏酵母屬(*yarrowia*) (EP 402,226)；畢赤酵母(*Pichia pastoris*) (EP 183,070)；念珠菌(*Candida*)；里氏木黴(*Trichoderma reesia*) (EP 244,234)；粗厚神經胞子菌(*Neurospora crassa*)；施氏酵母屬(*Schwanniomyces*)，諸如西方施氏酵母(*Schwanniomyces occidentalis*)；及絲狀真菌，諸如紅黴菌屬(*Neurospora*)、青黴菌屬(*Penicillium*)、彎頸黴屬(*Tolypocladium*)及麴菌屬(*Aspergillus*)宿主，諸如構巢麴黴(*A. nidulans*)及黑麴黴(*A. niger*)。適合宿主細胞亦可來源於多細胞生物。無脊椎動物細胞之實例包括植物細胞及昆蟲細胞。已鑑別多種桿狀病毒株及變異體以及來自諸如草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*) (毛蟲)、埃及伊蚊(*Aedes aegypti*) (蚊子)、白紋伊蚊(*Aedes albopictus*) (蚊子)、黑腹果蠅(*Drosophila melanogaster*) (果蠅)及家蠶(*Bombyx mori*)之宿主的對應許可昆蟲宿主細胞。用於轉染之多種病毒株公開可用，例如苜蓿銀紋夜蛾(*Autographa californica*) NPV之L-1變異體及家蠶NPV之Bm-5病毒株，且根據本發明此類病毒可用作本文中之病毒，尤其用於轉染草地黏蟲細胞。棉花、玉米、馬鈴薯、大豆、矮牽牛、番茄及菸草之植物細胞培養物亦可用作宿主。在一些實施例中，哺乳動物細胞為用於表現編碼免疫球蛋白或其片段之核苷酸區段的宿主細胞。參見Winnacker, From Genes to Clones, (VCH Publishers, NY, 1987)。能夠分泌完整異源蛋白質之多個適合的宿主細胞株已在此項技術中研發出，且包括CHO細胞株、各種COS

細胞株、HeLa細胞、HEK293細胞、L細胞及非產抗體骨髓瘤，包括Sp2/0及NS0。在一些實施例中，細胞為非人類。此等細胞之表現載體可包括諸如複製起點、啟動子、增強子(Queen等人，*Immunol. Rev.* 89:49 (1986))之表現控制序列，及諸如核糖體結合位點、RNA剪接位點、聚腺苷酸化位點之必需的加工資訊位點，以及轉錄終止子序列。在一些實施例中，表現控制序列係來源於內源基因、巨細胞病毒、SV40、腺病毒、牛乳突狀瘤病毒等之啟動子。參見Co等人, *J. Immunol.* 148:1149 (1992)。

【0130】 宿主細胞經用於產生抗TIGIT抗體的上述表現或選殖載體轉型且在適當時經調節之習知營養物培養基中培養以便誘導啟動子、選擇轉型體或擴增編碼所要序列的基因。一旦表現，抗體就可根據此項技術之標準程序純化，包括HPLC純化、管柱層析、凝膠電泳及其類似者(通常參見，Scopes, Protein Purification (Springer-Verlag, NY, 1982))。

【0131】

IV. 治療性應用

本發明之抗TIGIT抗體可用於增強癌症及傳染病治療中之免疫反應。可藉由本發明抗體治療之病症包括(但不限於)癌症，其包括血液科惡性疾病、實體腫瘤、梅克爾細胞癌(Merkel cell carcinoma)、尿道上皮癌、頭頸部鱗狀細胞癌、B細胞淋巴瘤、子宮癌、子宮頸癌、睪丸癌、胃腸道癌(例如，食道癌、胃食道接合處癌、口咽癌、胃癌、小腸或大腸癌、結腸癌或直腸癌)、膀胱癌、骨癌、骨髓癌、皮膚癌、膽囊癌、心臟癌、肺癌、唾液腺癌、腎上腺癌、甲狀腺癌、神經節癌、中樞神經系統(CNS)及周邊神經系統(PNS)癌症以及造血系統及免疫系統(例如脾臟或胸腺)之癌症。

【0132】本發明亦提供治療或預防其他癌症相關疾病、病症或病況之方法，該等疾病或病況包括例如免疫原性腫瘤、非免疫原性腫瘤、休眠腫瘤、病毒誘導之癌症(例如上皮細胞癌、內皮細胞癌、鱗狀細胞癌及乳頭狀瘤病毒)、腺癌、畸胎癌、化學誘導之癌症、癌轉移及血管生成。在特定實施例中，腫瘤或癌症為結腸癌、卵巢癌、乳癌、黑色素瘤、肺癌、神經膠母細胞瘤或白血病。術語癌症相關病症、疾病及病況之使用意謂廣泛指與癌症直接或間接相關之病況，且包括例如血管生成及癌變前病況，諸如發育不良。在某些實施例中，癌症可為轉移性的或處於變成轉移性之風險下，或可在彌漫性組織中出現，包括血液或骨髓之癌症(例如白血病)。

【0133】此類癌症可以表現或可以不表現TIGIT或CD155。針對TIGIT之抗體可有效針對不表現TIGIT之癌症，因為抑制TIGIT與CD155之相互作用刺激針對此類癌症之免疫反應。血液科惡性疾病之實例包括白血病、淋巴瘤及骨髓瘤，包括急性骨髓性白血病、成人T細胞白血病、T細胞大顆粒淋巴細胞白血病、急性淋巴母細胞白血病、慢性淋巴球性白血病、慢性骨髓性白血病、急性單核球性白血病、霍奇金氏(Hodgkin's)及非霍奇金氏淋巴瘤及多發性骨髓瘤。實體腫瘤之實例包括(但不限於)卵巢癌、子宮內膜癌、乳癌、肺癌(小細胞或非小細胞)、結腸癌、前列腺癌、子宮頸癌、胰臟癌、胃癌、食道癌、肝細胞癌(肝癌)、腎細胞癌(腎癌)、頭頸部腫瘤、間皮瘤、黑色素瘤、肉瘤及腦腫瘤(例如神經膠質瘤，諸如神經膠母細胞瘤)。

【0134】本發明之方法可在佐劑環境中實踐。「輔助環境(adjuvant setting)」係指個體具有增生性疾病史，尤其為癌症病史，且一般(但不一

定)已對療法起反應的臨床環境，療法包括(但不限於)外科手術、放射線療法及/或化學療法。然而，由於增生性疾病之病史，認為此等個體處於罹患該疾病之風險下。在「輔助環境」中之治療或投與係指後續治療模式。在一些實施例中，本文提供一種治療癌症或實現癌症預防之方法，其包括在輔助環境中向患有癌症或具有患癌症風險之個體投與治療有效量之本文所揭示之抗體中之任一者。

【0135】本文所提供之方法亦可在「新輔助環境(neoadjuvant setting)」中實踐，亦即，該方法可以在主要/確定性療法之前進行。在一些態樣中，個體先前已經過治療。在其他態樣中，個體先前未經過治療。在一些態樣中，治療係一線療法。在一些實施例中，本文提供一種治療癌症或實現癌症預防之方法，其包括在新輔助環境中向患有癌症或具有患癌症風險之個體投與治療有效量之本文所揭示之抗體中之任一者。

【0136】可藉由本發明之抗體治療之其他病症包括病毒、細菌、真菌、原生動物及其他病原體的傳染性疾病，例如，肝炎(A、B或C)、疱疹病毒(例如VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-II及CMV、埃-巴二氏病毒(Epstein Barr virus))、腺病毒、流感病毒、黃病毒、埃可病毒(echovirus)、鼻病毒、科沙奇病毒(coxsackie virus)、冠狀病毒、呼吸道融合性病毒、腮腺炎病毒、輪狀病毒、麻疹病毒、風疹病毒、小病毒、痘瘡病毒、HTLV病毒、登革熱病毒(dengue virus)、乳突狀瘤病毒、軟疣病毒、脊髓灰白質炎病毒、狂犬病病毒、JC病毒、HIV、SIV及蟲媒腦炎病毒、衣原體、立克次體細菌(rickettsial bacteria)、分枝桿菌、葡萄球菌、鏈球菌、肺炎球菌、腦膜炎球菌及淋球菌(conococci)、克雷伯氏菌(klebsiella)、變形桿菌、沙雷氏菌(serratia)、假單胞菌、軍團桿菌

(legionella)、白喉、沙門氏菌(salmonella)、桿菌、霍亂(cholera)、破傷風、肉毒中毒、炭疽、瘟疫、鉤端螺旋體病及萊姆病(Lymes disease)細菌。

【0137】

A. 抗體之投與

本文所描述之抗體係以有效療法投與，有效療法意指延遲病症發作、降低嚴重度、抑制進一步惡化及/或改善至少一種體徵或症狀的劑量、投與途徑及投與頻率。若個體已患上病症，則療法可稱作治療有效療法。若個體係相對於一般群體而言具有高得病風險，但尚未經歷症狀，則療法可稱作預防性有效療法。在一些情況下，可以在個別個體中相對於同一個體的歷史對照或過去的經歷觀察到治療性或預防性功效。在其他情況下，可以在臨床前或臨床試驗中在經治療個體群體中相對於未經治療個體之對照群體證明治療性或預防性功效。

【0138】在一些情況下，個體經鑑別為PD-L1陽性、CD155陽性、TIGIT陽性、MSI高、具有浸潤性T細胞、具有活化T細胞、具有高水準之與抗原加工及呈遞相關之分子、TMB高或任何其組合。在一些實施例中，基於例如在CD8+細胞及/或CD4+細胞及/或NK細胞上相對於對照群體的TIGIT之高表現，選擇患者用本文所描述之抗體進行治療。在一些情況下，個體經鑑別為患有致癌基因驅動癌症且具有在至少一個選自由以下組成之群的基因的突變：TP53、VHL、KRAS、BRAF、MET、FUBP1、RAC1、EGFR、CDK4、CTCF、PGR、RET、RASA1、JAK1、PHF6、NF1、CIC、ARID1A、ZFHX3、ZCCHC12、GNA11、SMAD4、USP9X、CDKN2A、FAT1、PIK3R1、SCAF4、PMS2、RNF43、SMC1A、BCOR、

FGFR2、COL5A1、ATM、KMT2B、CTNNB1、MYC、RAD21、PTEN、AXL、HIF1A、EPAS1、PAK4、RHOB、TBL1XR1、KEAP1、ZFP36L2、FGFR3、FOXA1、FLT3、TRAF3、RNF111、PPP2R1A、TXNIP、STAG2、RIT1、TGIF1、FOXQ1、ATR、CYSLTR2、PCBP1、PIK3R2、ASXL1、HIST1H1C、KLF5、PIK3CB、SPOP、MECOM、CACNA1A、CTNND1、DACH1、XPO1、ZNF750、FBXW7、MUC6、KDM6A、GATA3、ZBTB20、PIK3CA、RB1、SOX17、SMARCA4、KIT、CHD8、CHD4及APOB。

【0139】在一些態樣中，本文所描述之方法中之任一者包括向有需要之個體投與治療有效量的本文所描述之抗TIGIT抗體中之一或多者。如本文所用，抗癌療法(諸如本文所描述之抗TIGIT抗體中之任一者)之「治療有效量」或「治療有效劑量」係足以實現有利結果或所要結果的量。對於治療用途而言，有利結果或所要結果包括(但不限於)諸如以下之臨床結果：減少由癌症引起之一或多種症狀、提高患癌症個體之生活品質、降低治療癌症所需之其他藥物的劑量、增強另一藥物之作用(諸如經由靶向)、延緩疾病進展及/或延長存活期。可以一或多次投與形式來投與有效劑量。出於本發明之目的，抗癌療法之有效劑量係足以直接地或間接地完成治療性或預防性治療的量。如在臨床背景下所瞭解，抗癌療法之治療有效劑量可以或可以不結合另一抗癌療法達成。

【0140】本文所描述之抗體中之任一者的例示性劑量為每公斤體重約0.1-20 mg或0.5-5 mg (例如，約0.5 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg、3 mg/kg、4 mg/kg、5 mg/kg、6 mg/kg、7 mg/kg、8 mg/kg、9 mg/kg、10 mg/kg、11 mg/kg、12 mg/kg、13 mg/kg、14 mg/kg、15 mg/kg、16

mg/kg、17 mg/kg、18 mg/kg、19 mg/kg或20 mg/kg)或10-1600 mg (例如低於10 mg、20 mg、30 mg、40 mg、50 mg、60 mg、70 mg、80 mg、90 mg、100 mg、150 mg、200 mg、250 mg、300 mg、350 mg、400 mg、450 mg、500 mg、550 mg、600 mg、650 mg、700 mg、750 mg、800 mg、850 mg、900 mg、950 mg、1000 mg、1100 mg、1200 mg、1300 mg、1400 mg、1500 mg或1600 mg中之任一者或更高，包括此等數值之間的值)，作為固定劑量。在一個實施例中，本文所描述之抗體每三週以約300至1500 mg之量給出。在另一實施例中，本文所描述之抗體每四週以約300至1800 mg之量給出。無論治療係預防性或治療性且無論病症係急性或慢性，劑量均視個體之病況及對先前治療之反應(若存在)以及其他因素而定。

【0141】 投與可以係非經腸、靜脈內、經口、皮下、動脈內、顱內、鞘內、腹膜內、瘤內、局部、鼻內或肌肉內。在一些實施例中，向全身循環中投與係藉由靜脈內或皮下投與。靜脈內投與可以係例如藉由經諸如30-90 min之時段輸注。

【0142】 投與頻率視循環中之抗體之半衰期、個體之病況及投與途徑以及其他因素而定。響應於個體病況之改變或待治療病症之進展，頻率可以係每天、每週、每月、每季度或不規律的時間間隔。在一實施例中，頻率可為兩週循環。在另一實施例中，頻率可為三週循環。在另一實施例中，頻率為四週循環。在另一實施例中，頻率為六週循環。在連續的治療過程中，例示性靜脈內投與頻率係介於每週與每季度之間，但更頻繁或較不頻繁的給藥亦係可能的。對於皮下投與，例示性給藥頻率為每日至每月，但更頻繁或較不頻繁的給藥亦為可能的。

【0143】所投與劑量之數目視病症係急性或慢性及病症對治療之反應而定。關於急性病症或慢性病症之急性惡化，1個與10個劑量之間常常係足夠的。有時候，視情況呈分開形式的單一推注劑量對於急性病症或慢性病症之急性惡化而言為足夠的。針對急性病症或急性惡化之復發，治療可重複。關於慢性病症，抗體可以按常規時間間隔投與，例如每週、每兩週、每月、每季度、每六個月，持續至少1、5或10年，或個體一生。

【0144】與對照個體相比，包括抗TIGIT抗體之治療可藉由將患有癌症之個體的中值無進展存活期或總存活時間增加至少約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或甚至100%來緩解疾病，或將此等時間增加2週、1個月、2個月或3個月、或4個月、6個月甚至9個月或一年。另外或替代地，與對照個體相比，包括抗TIGIT抗體之治療可使個體之完全反應率、部分反應率或客觀反應率(完全+部分)增加至少約30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 甚 至100%。除抗TIGIT抗體以外，對照個體接受與接受抗TIGIT抗體之個體相同的治療。因此，若接受抗TIGIT抗體之個體接受單獨的安慰劑或安慰劑與除抗TIGIT抗體以外的一些化學治療劑之組合，則對照個體亦可以接受此等。

【0145】 本文所揭示之抗TIGIT抗體可以使CD155表現細胞(諸如(但不限於)K562細胞)的細NK胞介導之細胞毒性相對於在不存在本文所揭示之抗TIGIT抗體中之一者的情況下CD155表現細胞的NK細胞介導之細胞毒性之量增強以下中之任一者：約10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25% 26% 27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%或更大。

【0146】 通常，在臨床試驗(例如II期、II/III期或III期試驗)中，經抗TIGIT抗體治療之個體的中值無進展存活期及/或反應率相對於對照組個體的增加係統計學上顯著的，例如處於p=0.05或0.01或甚至0.001水準下。完全及部分反應率係藉由癌症臨床試驗中常用的客觀標準測定，例如如國家癌症研究院(National Cancer Institute)及/或食品與藥物管理局(Food and Drug Administration)所列的或所認可的，且尤其可以包括例如腫瘤體積、腫瘤數目、轉移、存活時間及生活品質量測。

【0147】 用於非經腸投與之醫藥組合物可為無菌的且基本上等張的且在GMP條件下製造。醫藥組合物可以單位劑型(亦即，用於單次投與之劑量)提供。醫藥組合物可使用一或多種生理上可接受之載體、稀釋劑、賦形劑或助劑來調配。調配視所選投與途徑而定。對於注射，抗體可在水溶液中，諸如在生理學上相容的緩衝液中調配，諸如漢克氏溶液(Hank's

solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)或生理鹽水或乙酸鹽緩衝液(以降低注射部位之不適)。溶液可含有調配劑，諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。或者，抗體可呈冷凍乾燥形式，在使用之前用適合媒劑，例如無菌無熱原水復原。液體調配物中之抗體之濃度可以在例如約10-150 mg/ml之範圍內變化。在一些調配物中，濃度為約20-80 mg/ml。

【0148】

B. 組合療法

本發明涵蓋抗TIGIT抗體單獨或與一或多種活性治療劑組合之用途。其他活性治療劑可為小化學分子；大分子，諸如蛋白質、抗體、肽體、肽、DNA、RNA或此類大分子之片段；或細胞或基因療法。組合療法可靶向不同但互補的作用機制且藉此對潛在疾病、病症或病況具有協同的治療或預防作用。另外或替代地，組合療法可允許藥劑中之一或多者的劑量減少，藉此改善、減少或消除與藥劑中之一或多者相關的不良影響。

【0149】 此類組合療法中之活性治療劑可調配為單一組合物或單獨組合物。若分別投與，則可在相同或大約相同的時間或在不同時間給藥組合中之各治療劑。此外，「組合」投與治療劑，即使其具有不同的投與形式(例如，口服膠囊及靜脈內)，其以不同的劑量間隔給藥，一種治療劑以恆定給藥方案給藥，而滴定增加、滴定減小或中止另一治療劑，或組合中之各治療劑的劑量在患者之治療療程期間獨立地滴定增加、滴定減小、增加或減小，或中止及/或恢復治療。若組合調配為單獨組合物，則在一些實施例中，單獨組合物一起提供於套組中。

【0150】 在某些實施例中，本文所揭示之抗TIGIT抗體中的任一者依序投與或施用至另外的活性治療劑中之一或多者，例如其中另外的活性

治療劑中之一或多者在投與根據本發明之抗TIGIT抗體之前或之後投與。在其他實施例中，抗體與一或多種另外的活性治療劑同時投與，例如其中抗TIGIT抗體與一或多種另外的治療劑同時或約同時投與；抗TIGIT抗體與一或多種另外的治療劑可存在於兩種或更多種單獨調配物中或組合成單一調配物(亦即共調配物)。不管另外之藥劑是否與抗TIGIT抗體依序或同時投與，認為其出於本發明之目的以組合形式投與。

【0151】 本發明之抗體可以與至少一種其他(活性)藥劑以任何在各情況下適合之方式組合使用。在一個實施例中，用至少一種活性劑及至少一種本發明之抗TIGIT抗體治療維持一段時間。在另一實施例中，用至少一種活性劑之治療係減少或中斷(例如，當個體穩定時)，而用本發明之抗TIGIT抗體之治療係按恆定給藥方案維持。在另一實施例中，用至少一種活性劑之治療係減弱或中斷(例如，當個體穩定時)，而用本發明之抗TIGIT抗體之治療係減弱(例如較低劑量、較不頻繁給藥或較短治療療程)。在另一實施例中，用至少一種活性劑之治療係減弱或中斷(例如，當個體穩定時)，而用本發明之抗TIGIT抗體之治療係增加(例如較高劑量、較頻繁給藥或較長治療療程)。在另一實施例中，維持用至少一種活性劑之治療，而用本發明之抗TIGIT抗體之治療係減弱或中斷(例如較低劑量、較不頻繁給藥或較短治療療程)。在另一實施例中，減弱或中斷用至少一種活性劑治療及用本發明之抗TIGIT抗體治療(例如較低劑量、較不頻繁給藥或較短治療療程)。

【0152】 用本發明之抗體治療可以與可有效針對待治療病症之其他治療組合。當用於治療增生性病狀、癌症、腫瘤或癌前期疾病、病症或病狀時，本發明之抗體可以與化學療法、放射(例如，局部放射療法或全身

放射療法)、幹細胞治療、外科手術或用其他生物製品治療組合。

【0153】本發明之抗體可與引起針對癌症之免疫反應的疫苗一起投與。此類免疫反應藉由本發明之抗體而增強。疫苗可包括在癌細胞及/或腫瘤之表面上表現的抗原或其可有效誘導免疫反應的片段，視情況與載劑分子相連。

【0154】在一些實施例中，額外治療劑中之一或多者為免疫調節劑。可用於本發明中之適合免疫調節劑包括CD40L、B7及B7RP1；刺激性受體之活化單株抗體(mAb)，諸如抗CD40、抗CD38、抗ICOS及4-IBB配體；樹突狀細胞抗原負載(活體外或活體內)；抗癌疫苗，諸如樹突狀細胞癌症疫苗；細胞介素/趨化介素，諸如IL1、IL2、IL12、IL18、ELC/CCL19、SLC/CCL21、MCP-1、IL-4、IL-18、TNF、IL-15、MDC、IFNα/β、M-CSF、IL-3、GM-CSF、IL-13及抗IL-10；細菌性脂多醣(LPS)；吲哚胺2,3-二加氧酶1 (IDO1)抑制劑；及免疫刺激寡核苷酸。

【0155】在某些實施例中，本發明提供針對抑制腫瘤生長的方法，其包括投與本文中所描述之抗TIGIT抗體與信號轉導抑制劑(STI)之組合以實現腫瘤生長之附加或協同抑制。如本文所使用，術語「信號轉導抑制劑」係指選擇性地抑制信號傳導路徑中之一或多個步驟的藥劑。本發明涵蓋之信號轉導抑制劑(STI)包括：(i) bcr/abl激酶抑制劑(例如甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate) (GLEEVEC®))；(ii)表皮生長因子(EGF)受體抑制劑，包括激酶抑制劑(例如吉非替尼(gefitinib)、厄洛替尼(erlotinib)阿法替尼(afatinib)及奧希替尼(osimertinib))及抗體；(iii) her-2/neu受體抑制劑(例如HERCEPTIN®)；(iv) Akt家族激酶或Akt路徑之抑制劑(例如雷帕

黴素(rapamycin))；(v)細胞循環激酶抑制劑(例如夫拉平度(flavopiridol))；及(vi)磷脂醯肌醇激酶抑制劑。參與免疫調節之藥劑亦可與本文所描述之抗TIGIT抗體組合使用以抑止癌症患者中之腫瘤生長。

【0156】在一些實施例中，額外治療劑中之一或多者為化學治療劑。化學治療劑之實例包括但不限於：烷基化劑，諸如噻替派(thiotepa)及環磷醯胺；磺酸烷基酯，諸如白消安、英丙舒凡(improsulfan)及哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯唑多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、米特多巴(meturedopa)及尤利多巴(uredopa)；伸乙亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺、曲他胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及三羥甲基三聚氰胺；氮芥，諸如氯芥苯丁酸、萘氮芥、氯磷醯胺、雌氮芥、異環磷醯胺(ifosfamide)、二氯甲基二乙胺、二氯甲基二乙胺氧化物鹽酸鹽、美法侖、新氮芥(novembichin)、苯芥膽甾醇(phenesterine)、潑尼氮芥(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶芥；亞硝基脲，諸如卡莫司汀(carmustine)、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀(lomustine)、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimustine)；抗生素，諸如阿克拉黴素(aclacinomysins)、放線菌素(actinomycin)、安麴黴素(authramycin)、偶氮絲胺酸(azaserine)、博來黴素(bleomycins)、放線菌素C(cactinomycin)、卡奇黴素(calicheamicin)、卡柔比星(carabicin)、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌菌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycins)、放線菌素D、道諾黴素、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、艾達黴素(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂

黴素(mitomycins)、黴酚酸(mycophenolic acid)、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycins)、培洛黴素(peplomycin)、潑非黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、奎那黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黑菌素(streptonigrin)、鏈脲佐菌素、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、淨司他丁(zinostatin)、左柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤及5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如迪諾特寧(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、曲美沙特(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紮胞苷(azacitidine)、6-氮雜尿苷、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、5-FU；雄激素，諸如卡魯睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾內酯(testolactone)；抗腎上腺，諸如胺魯米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸(folinic acid)；乙醯葡醛酯；醛磷醯胺糖苷；胺基乙醯丙酸；安吖啶(amsacrine)；貝斯布西(bestrabucil)；比山群(bisantrene)；艾達曲克(edatraxate)；得弗伐胺(defofamine)；地美可辛(demecolcine)；地吖醌(diaziquone)；艾福米辛(elformithine)；依利醋銨(elliptinium acetate)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎵；羥基脲；香菇多醣(lentinan)；氯尼達明(lonidamine)；丙脒腙(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidamol)；尼曲吖啶(nitracrine)；噴司他丁(pentostatin)；苯來美

特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼；丙卡巴肼(procarbazine)；雷佐生(razoxane)；西佐喃(sizofuran)；螺旋鍺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺；烏拉坦(urethan)；長春地辛(vindesine)；達卡巴嗪；甘露醇氮芥(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加西托星(gacytosine)；阿拉伯糖苷(Ara-C)；環磷醯胺；噻替派(thiotepa)；類紫杉醇(taxoids)，例如紫杉、白蛋白結合型紫杉醇(nab-paclitaxel)及多西他賽(docetaxel)；氯芥苯丁酸；吉西他濱(gemcitabine)；6-硫鳥嘌呤；巰基嘌呤；甲胺喋呤；鉑及鉑配位複合物，諸如順鉑、卡鉑及奧沙利鉑；長春鹼；依託泊苷(etoposide/VP-16)；異環磷醯胺(ifosfamide)；絲裂黴素C；米托蒽醌；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine)；溫諾平(navelbine)；諾安托(novantrone)；替尼泊甙(teniposide)；柔紅黴素(daunomycin)；胺基喋呤(aminopterin)；希羅達(xeloda)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CPT11；拓樸異構酶抑制劑；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；視黃酸；埃斯波黴素(esperamicins)；卡培他濱(capecitabine)；及以上各者中的任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。

【0157】化學治療劑亦包括用來調節或抑制激素對腫瘤之作用的抗激素劑，諸如抗雌激素，包括例如他莫昔芬(tamoxifen)、那洛昔芬(raloxifene)、芳香酶抑制性4(5)-咪唑、4-羥基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、奧那司酮(onapristone)及托瑞米芬(toremifene)；及抗雄激素，諸如阿比特龍(abiraterone)、恩雜魯胺

(enzalutamide)、阿帕魯胺(apalutamide)、達魯胺(darolutamide)、氟他胺(flutamide)、尼魯胺(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；及以上各者中的任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。在某些實施例中，組合療法包括化學療法方案，其包括一或多種化學治療劑。在某些實施例中，組合療法包括投與激素或相關激素劑。

【0158】可與抗TIGIT抗體組合使用之額外治療模態包括放射療法、針對腫瘤抗原之單株抗體、抗體及毒素之錯合物、T細胞佐劑、骨髓移植或抗原呈遞細胞(例如，樹突狀細胞療法)，包括用於刺激此等抗原呈遞細胞的TLR促效劑。

【0159】在某些實施例中，本發明涵蓋本文中所描述之抗TIGIT抗體與基於RNA干擾之療法組合以使基因表現沉默之用途。RNAi開始將較長雙股RNA斷裂成小干涉RNA (siRNA)。將siRNA中之一條鏈併入至稱為RNA誘導沉默錯合物(RISC)之核糖核蛋白錯合物中，其接著用於識別與所併入siRNA鏈至少部分互補的mRNA分子。RISC可結合至或斷裂mRNA，其兩者均抑制轉譯。

【0160】在某些實施例中，本發明涵蓋本文中所描述之抗TIGIT抗體與調節腺苷水準之藥劑組合的用途。此等治療劑可對催化ATP轉化為腺苷之胞外核苷酸起作用，包括將ATP水解為ADP且將ADP水解為AMP之胞外核苷三磷酸二磷酸水解酶1 (ENTPD1，亦稱為CD39或分化簇(Cluster of Differentiation) 39)及將AMP轉化為腺苷之胞外5'-核苷酸酶(NT5E或5NT，亦稱為CD73或分化簇73)。在一個實施例中，本發明涵蓋與CD73抑制劑組合，該等抑制劑諸如WO 2017/120508、WO 2018/094148及WO

2018/067424中所描述之彼等者。在一個實施例中，CD73抑制劑為AB680。在另一方法中，靶向腺苷A2a及A2b受體。亦涵蓋與A2a及/或A2b受體之拮抗劑之組合。在一個實施例中，本發明涵蓋與WO/2018/136700或WO 2018/204661中所描述之腺苷受體拮抗劑之組合。在一個實施例中，腺苷受體拮抗劑為AB928 (艾魯美冷(etrumadenant))。

【0161】在某些實施例中，本發明涵蓋本文中所描述之抗TIGIT抗體與磷脂醯肌醇3-激酶(PI3K)之抑制劑，特定言之PI3Kγ同功異型物組合的用途。PI3Kγ抑制劑可經由調節骨髓細胞，諸如藉由抑制抑止性骨髓細胞，抑制免疫抑止性腫瘤浸潤性巨噬細胞或藉由刺激巨噬細胞及樹突狀細胞來刺激抗癌免疫反應，以產生有助於有效T細胞反應之細胞介素，從而導致癌症發展及擴散減少。可與本文所描述之抗TIGIT抗體組合的例示性PI3Kγ抑制劑包括WO 2020/0247496A1中所描述之彼等物。在一個實施例中，PI3Kγ抑制劑為IPI-549。

【0162】在某些實施例中，本發明涵蓋本文所描述之抗TIGIT抗體與精胺酸酶之抑制劑組合的用途，已展示該等抑制劑造成或參與發炎觸發之免疫功能異常、腫瘤免疫逃逸、免疫抑制及傳染病之免疫病理學。例示性精胺酸酶化合物可發現於例如PCT/US2019/020507及WO/2020/102646中。

【0163】在某些實施例中，本發明涵蓋根據本發明之抗TIGIT抗體與HIF-2α抑制劑之用途，該等抑制劑在對低氧可用性之細胞反應中起整體作用。在低氧條件下，低氧誘導因子(HIF)轉錄因子可激活調控代謝、血管生成、細胞增殖及存活、免疫逃避及發炎反應之基因表現。HIF-2α

過度表現已與患有多種癌症之患者的不良臨床結果相關；在許多急性及慢性發炎性病症，諸如發炎性腸道疾病及類風濕性關節炎中，低氧亦普遍存在。

【0164】本發明亦涵蓋本文所描述之抗TIGIT抗體與一或多種RAS信號傳導抑制劑之組合。RAS基因家族，例如HRAS、KRAS及NRAS的致癌突變與多種癌症相關。例如，已在多個腫瘤類型中觀測到KRAS家族基因中之G12C、G12D、G12V、G12A、G13D、Q61H、G13C及G12S以及其他突變。已研究用於抑制突變型RAS信號傳導之直接及間接抑制策略。間接抑制劑靶向RAS信號傳導路徑中除RAS以外之效應子，且包括(但不限於) RAF、MEK、ERK、PI3K、PTEN、SOS (例如SOS1)、mTORC1、SHP2 (PTPN11)及AKT之抑制劑。正在開發的間接抑制劑之非限制性實例包括RMC-4630、RMC-5845、RMC-6291、RMC-6236、JAB-3068、JAB-3312、TNO155、FLY-1971、BI1701963。亦已研究RAS突變體之直接抑制劑，且一般靶向KRAS-GTP錯合物或KRAS-GDP錯合物。正在開發之例示性直接RAS抑制劑包括(但不限於)索妥昔布(sotorasib) (UNK G510)、MRTX849、mRNA-5671及ARS1620。在一些實施例中，一或多種RAS信號傳導抑制劑係選自由以下組成之群：RAF抑制劑、MEK抑制劑、ERK抑制劑、PI3K抑制劑、PTEN抑制劑、SOS1抑制劑、mTORC1抑制劑、SHP2抑制劑及AKT抑制劑。在其他實施例中，一或多種RAS信號傳導抑制劑直接抑制RAS突變體。

【0165】在一些實施例中，本發明係關於根據本揭示之抗TIGIT抗體與一或多種anexelekto (亦即AXL)之抑制劑的組合。AXL信號傳導路徑與腫瘤生長及癌轉移相關，且咸信介導對多種癌症療法的抗性。正在開發

的多種AXL抑制劑亦抑制TAM家族中的其他激酶(亦即TYRO3，MERTK)，以及其他受體酪胺酸激酶，包括MET、FLT3、RON以及AURORA，以及其他。例示性多重激酶抑制劑包括吉列替尼(gilteritinib)、默萊替尼(merestinib)、卡博替尼(cabozantinib)、BMS777607及弗雷替尼foretinib)。亦已研發出AXL特異性抑制劑，例如SGI-7079、TP-0903 (亦即度波替尼(dubermatinib))、BGB324 (亦即貝西替尼(bemcentinib))及DP3975。

【0166】 在某些實施例中，本發明涵蓋本文所描述之抗TIGIT抗體與過繼細胞療法(一種新型的且有前景形式之個人化免疫療法，其中向癌症患者投與具有抗腫瘤活性之免疫細胞)組合的用途。正使用經工程改造以表現例如嵌合抗原受體(CAR)或T細胞受體(TCR)之腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)及T細胞來探索過繼細胞療法。過繼細胞療法通常涉及自個體採集T細胞，對其進行遺傳修飾以靶向特異性抗原或增強其抗腫瘤效果，從而使其擴增至充足數目，以及將經遺傳修飾之T細胞輸注至癌症患者中。T細胞可採集自隨後將向其重新輸注經擴增細胞之患者(例如自體)或可採集自供體患者(例如，同種異體)。

【0167】 T細胞介導之免疫性包括多個依序步驟，其中之每一者藉由均衡刺激及抑制信號來調節以便使反應最佳化。雖然免疫反應中幾乎所有抑制信號最終調節胞內信號傳導路徑，許多經由膜受體起始，其配體為膜結合或可溶的(細胞介素)。雖然調節T細胞活化之共刺激及抑制受體及配體相對於正常組織經常不在癌症中過度表現，但在組織中調節T細胞效應子功能之抑制配體及受體通常在腫瘤細胞上或在與腫瘤微環境相關之未經轉型細胞上過度表現。可溶及膜結合受體(配體免疫檢查點)之功能可使

用促效劑抗體(對於共刺激路徑)或拮抗劑抗體(對於抑制路徑)調節。因此，與目前批准用於癌症療法之大多數抗體相反，阻斷或促效免疫檢查點之抗體不直接靶向腫瘤細胞，而靶向淋巴細胞受體或其配體以便增強內源抗腫瘤活性。[參見Pardoll, (2012年4月) Nature Rev. Cancer 12:252-64]。

【0168】 作為用於阻斷之候選物的免疫檢查點(配體及受體)之實例(其中一些在各種類型之腫瘤細胞中選擇性上調)包括PD-1 (計劃性細胞死亡蛋白1)；PD-L1 (計劃性細胞死亡1配體1)；BTLA (B及T淋巴球衰減子)；CTLA4 (細胞毒性T淋巴細胞相關抗原4)；TIM-3 (T細胞免疫球蛋白黏蛋白3)；LAG-3 (淋巴細胞活化基因3)；TIGIT (具有Ig及ITIM域之T細胞免疫受體)；及殺手抑制受體，其可基於其結構特徵劃分為兩種類別：i) 殺手細胞免疫球蛋白樣受體(KIR)，及ii) C型凝集素受體(II型跨膜受體家族之成員)。其他較不定義明確之免疫檢查點已描述於文獻中，包括受體(例如2B4 (亦稱為CD244)受體)及配體(例如某些B7家族抑制配體，諸如B7-H3 (亦稱為CD276)及B7-H4 (亦稱為B7-S1、B7x及VCTN1))。[參見Pardoll, (2012年4月) Nature Rev. Cancer 12:252-64]。

【0169】 本發明內容涵蓋本文所描述之抗TIGIT抗體與前述免疫檢查點受體及配體之抑制劑以及待描述之免疫檢查點受體及配體組合的用途。免疫檢查點之某些調節劑目前經批准，且許多其他調節劑處於發展中。完全人類化CTLA4單株抗體伊匹單抗(ipilimumab) (例如YERVOY®；Bristol-Myers Squibb)在2011年經批准用於治療黑色素瘤時成為接受美國管理批准之第一種免疫檢查點抑制劑。包括CTLA4及抗體(CTLA4-Ig；abatcept (ORENCIA®；Bristol Myers Squibb))之融合蛋白已用於治療類風濕性關節炎，且其他融合蛋白已展示為在對埃-巴二氏病

毒(Epstein Barr Virus)敏感之腎移植患者中有效。接受管理批准之另一類免疫檢查點抑制劑係針對PD-1及其配體PD-L1及PD-L2。經批准之抗PD-1抗體包括用於各種癌症之納武單抗(OPDIVO®；Bristol Myers Squibb)及派立珠單抗(KEYTRUDA®；Merck)，該等癌症包括鱗狀細胞癌、典型霍奇金淋巴瘤(classical Hodgkin lymphoma)及尿道上皮癌。經批准之抗PD-L1抗體包括用於某些癌症之阿維魯單抗(avelumab) (BAVENCIO®，EMD Serono & Pfizer)、阿特珠單抗(TECENTRIQ®；Roche/Genentech)及度伐利尤單抗(IMFINZI®；AstraZeneca)，該等癌症包括尿道上皮癌。在本文所提供之一些組合中，免疫檢查點抑制劑係選自MEDI-0680納武單抗、派立珠單抗、阿維魯單抗、阿特珠單抗、布格利單抗(budigalimab)、BI-754091、卡瑞利珠單抗(camrelizumab)、柯希利單抗(cosibelimab)、度伐利尤單抗多塔利單抗(dostarlimab)、西米普利單抗、信迪利單抗(sintilimab)、替雷利珠單抗、特瑞普利單抗(toripalimab)、瑞弗利單抗(retifanlimab)、薩善利單抗(sasanlimab)及賽帕利單抗(zimberelimab) (AB122)。在一些實施例中，免疫檢查點抑制劑為MEDI-0680 (AMP-514；WO2012/145493)或皮立珠單抗(pidilizumab) (CT-011)。靶向PD-1受體之另一方法為由PD-L2 (B7-DC)之胞外域與IgGl之Fc部分融合而構成之重組蛋白質，其稱為AMP-224。在一個實施例中，本發明涵蓋根據本發明之抗TIGIT抗體與PD-1抗體之用途。在一個特定實施例中，PD-1抗體為賽帕利單抗。在一些實施例中，抗TIGIT抗體以每三週約200至1500 mg之量提供且抗PD-1抗體以每三週約100至1200 mg之量提供。在另一實施例中，本文所描述之抗TIGIT抗體以每四週約300至1800 mg之量提供且抗PD-1抗體以每四週約200至1500 mg之量提供。在再另一

實施例中，抗PD-1抗體為賽帕利單抗且以每三週或四週約360 mg或480 mg之量提供。

【0170】在另一態樣中，本發明涵蓋與抑制T細胞活化之細胞介素(例如IL-6、IL-10、TGF-B、VEGF及其他免疫抑制細胞介素)或刺激T細胞活化之細胞介素之組合，以便刺激免疫反應。

【0171】在另一態樣中，T細胞反應可藉由所揭示之抗TIGIT抗體與以下中之一或多者之組合刺激：(i)抑制T細胞活化之蛋白質之拮抗劑(例如，免疫檢查點抑制劑)，諸如CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、LAG-3、TIM-3、PVRIG、半乳糖凝集素9、CEACAM-1、BTLA、CD69、半乳糖凝集素-1、CD113、GPR56、VISTA、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1及TIM-4；及/或(ii)刺激T細胞活化之蛋白質之促效劑，諸如B7-1、B7-2、CD28、4-1BB (CD137)、4-1BBL、ICOS、ICOS-L、OX40、OX40L、GITR、GITRL、CD70、CD27、CD40、DR3及CD2。可與本發明之抗TIGIT抗體組合用於治療癌症之其他藥劑包括NK細胞上之抑制受體的拮抗劑或NK細胞上之活化受體的促效劑。例如，本文所描述之抗TIGIT抗體可與KIR之諸如利瑞路單抗(lirilumab)的拮抗劑組合。

【0172】用於組合療法之其他藥劑包括抑制或耗盡巨噬細胞或單核球之藥劑，包括(但不限於) CSF-1R拮抗劑，諸如CSF-1R拮抗劑抗體，包括RG7155 (WO11/70024、WO11/107553、WO11/131407、WO13/87699、WO13/119716、WO13/132044)或FPA-008 (WO11/140249、WO13169264、WO14/036357)。

【0173】在另一態樣中，所揭示之抗TIGIT抗體可與以下中之一或

多者組合：接合陽性共刺激受體之促效劑；減弱經由抑制受體之信號傳導的阻斷劑；拮抗劑；及全身性增加抗腫瘤T細胞之出現率的一或多種藥劑；克服腫瘤微環境內不同免疫抑止路徑(例如阻斷抑制受體接合(例如PD-Ll/PD-1相互作用)、耗盡或抑制Tregs (例如使用抗CD25單株抗體(例如達利珠單抗(daclizumab))或藉由離體抗CD25珠耗盡)或逆轉/防止T細胞失能或耗竭)之藥劑；及觸發腫瘤位點處之先天性免疫活化及/或發炎的藥劑。

【0174】在一個態樣中，免疫腫瘤學藥劑為CTLA-4拮抗劑，諸如拮抗性CTLA-4抗體。適合之CTLA-4抗體包括例如伊匹單抗(例如YERVOY®；Bristol Myers Squibb)或曲美單抗。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為PD-Ll拮抗劑，諸如拮抗性PD-Ll抗體。適合之PD-Ll抗體包括例如阿特珠單抗(MPDL3280A；WO2010/077634) (例如TECENTRIQ®；Roche/Genentech)、度伐利尤單抗(MEDI4736)、BMS-936559 (WO2007/005874)及MSB0010718C (WO2013/79174)。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為LAG-3拮抗劑，諸如拮抗性LAG-3抗體。適合之LAG-3抗體包括例如BMS-986016 (WO10/19570、WO14/08218)或IMP-731或IMP-321 (WO08/132601、WO09/44273)。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為CD137 (4-1BB)促效劑，諸如促效性CD137抗體。適合之CD137抗體包括例如烏瑞魯單抗(urelumab)及PF-05082566 (WO12/32433)。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為GITR促效劑，諸如促效性GITR抗體。適合之GITR抗體包括例如BMS-986153、BMS-986156、TRX-518 (WO06/105021、WO09/009116)及MK-4166 (WO11/028683)。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為OX40促效劑，諸如促效性OX40抗體。適合之

OX40抗體包括例如MEDI-6383或MEDI-6469。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為OX40L拮抗劑，諸如拮抗性OX40抗體。適合之OX40L拮抗劑包括例如RG-7888 (WO06/029879)。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為CD40促效劑，諸如促效性CD40抗體。在另一實施例中，免疫腫瘤學藥劑為CD40拮抗劑，諸如拮抗性CD40抗體。適合之CD40抗體包括例如魯卡木單抗(lucatumumab)或達西珠單抗(dacetuzumab)。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為CD27促效劑，諸如促效性CD27抗體。適合之CD27抗體包括例如瓦里木單抗(varlilumab)。在另一態樣中，免疫腫瘤學藥劑為MGA271 (針對B7H3) (WO11/109400)。在另一實施例中，涵蓋根據本發明之抗TIGIT抗體與針對Trop-2之藥劑的組合，例如抗體藥物結合物、戈沙妥組單抗(sacituzumab govitecan-hziy)。在另一實施例中，涵蓋本文所描述之抗TIGIT抗體與抑制CD47-SIRPα路徑之藥劑的組合。抗CD47抗體之實例為莫洛利單抗(magrolimab)。

【0175】 適用於治療心臟血管及/或代謝相關疾病、病症及病況之組合療法之治療劑的實例包括士他汀(statins) (例如，CRESTOR®、LESCOL®、LIPITOR®、MEVACOR®、PRAVACOL®及ZOCOR®)，其抑制膽固醇之酶促合成；膽汁酸樹脂(例如，COLESTID®、LO-CHOLEST®、PREVALITE®、QUESTRAN®及WELCHOL®)，其螯合膽固醇且防止其吸收；依澤替米貝(ezetimibe) (ZETIA®)，其阻斷膽固醇吸收；纖維酸(例如，TRICOR®)，其減少三酸甘油酯且可適當地增加HDL；菸酸(例如，NIACOR®)，其適當地降低LDL膽固醇及三酸甘油酯；及/或前述之組合(例如，VYTORIN® (依澤替米貝與辛伐他汀(simvastatin))。可為用於與本文所描述之抗TIGIT抗體組合使用之候選物

的替代膽固醇治療劑包括各種補充劑及草本植物(例如大蒜、甘蔗原素(policosanol)及印度香膠樹(guggul))。

【0176】適用於免疫及發炎相關疾病、病症或病況之組合療法之治療劑的實例包括(但不限於)以下：非類固醇抗炎藥(NSAID)，諸如阿司匹林(aspirin)、布洛芬(ibuprofen)及其他丙酸衍生物(阿明洛芬(alminoprofen)、苯惡洛芬(benoxaprofen)、布氯酸(bucloxic acid)、卡洛芬(carprofen)、芬布芬(fenbufen)、非諾洛芬(fenoprofen)、氟洛芬(fluprofen)、氟比洛芬(flurbiprofen)、吲哚洛芬(indoprofen)、酮洛芬(ketoprofen)、咪洛芬(miroprofen)、萘普生(naproxen)、奧沙普嗪(oxaprozin)、吡洛芬(pirprofen)、普拉洛芬(pranoprofen)、舒洛芬(suprofen)、噻洛芬酸(tiaprofenic acid)及硫惡洛芬(tioxaprofen))、乙酸衍生物(吲哚美辛(indomethacin)、阿西美辛(acemetacin)、阿氯芬酸(alclofenac)、環氯茚酸(clidanac)、雙氯芬酸(diclofenac)、芬氯酸(fenclofenac)、芬克洛酸(fenclozic acid)、芬替酸(fentiazac)、弗洛芬克(fuirofenac)、異丁芬酸(ibufenac)、伊索克酸(isoxepac)、噁平酸(oxpinac)、舒林酸(sulindac)、硫平酸(tiopinac)、托美丁(tolmetin)、齊多美辛(zidometacin)及佐美酸(zomepirac))、芬那酸衍生物(氟芬那酸(flufenamic acid)、甲氯芬那酸(meclofenamic acid)、甲芬那酸(mefenamic acid)、氟尼酸(niflumic acid)及托芬那酸(tolfenamic acid))、聯苯羧酸衍生物(二氟尼柳(diflunisal)及氟苯柳(flufenisal))、昔康(oxicam) (伊索昔康(isoxicam)、吡羅昔康(piroxicam)、舒多昔康(sudoxicam)及替諾昔康(tenoxican))、水楊酸鹽(乙醯基水楊酸、柳氮磺胺吡啶)及二氫吡唑酮(阿帕宗(apazone)、苯哌隆(bezpiperylon)、非普拉

宗(feprazone)、莫非布宗(mofebutazone)、羥布宗(oxyphenbutazone)、苯基丁氮酮(phenylbutazone))。其他組合包括環加氧酶-2 (COX-2)抑制劑。

【0177】用於組合之其他活性劑包括類固醇，諸如普賴蘇穠(prednisolone)、普賴松(prednisone)、甲基普賴蘇穠(methylprednisolone)、倍他米松(betamethasone)、地塞米松(dexamethasone)或氫皮質酮(hydrocortisone)。此種組合可尤其有利，此係因為可藉由使所需類固醇劑量逐漸減少來減少或甚至消除類固醇之一或多種不良影響。

【0178】可以組合形式用於治療例如類風濕性關節炎之活性劑之額外實例包括細胞介素抑制消炎藥(CSAID)；針對其他人類細胞介素或生長因子之抗體或其他人類細胞介素或生長因子之拮抗劑，該等人類細胞介素或生長因子例如TNF、LT、IL-10、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF或PDGF。

【0179】活性劑之特定組合可在不同位置在自體免疫及隨後發炎級聯反應中干擾，且包括TNF拮抗劑，諸如嵌合、人類化或人類TNF抗體、REMICADE®、HUMIRA®、抗TNF抗體片段(例如CDP870)及可溶p55或p75 TNF受體、其衍生物、p75TNFRIgG (ENBREL®)或p55TNFR1gG (來那西普(lenercept))、可溶IL-13受體(sIL-13)以及TNFα-轉化酶(TACE)抑制劑；類似地IL-1抑制劑(例如介白素-1-轉化酶抑制劑)可有效。其他組合包括介白素11、抗P7s及p-選擇素糖蛋白配體(PSGL)。適用於與本文所描述之A2AR/A2BR抑制劑組合之藥劑之其他實例包括干擾素-131a (AVONEX®)；干擾素-13lb (BETASERON®)；克帕松(copaxone)；高壓

氧；靜脈內免疫球蛋白；克拉屈濱(clabribine)；及針對其他人類細胞介素或生長因子之抗體或其他人類細胞介素或生長因子之拮抗劑(例如針對CD40配體及CD80之抗體)。

【0180】在一些實施例中，組合係本發明之抗體與第二抗體，該第二抗體係針對相對於對照正常組織而言較佳在癌細胞上表現的表面抗原。可以與本發明之抗體一起以組合療法投與來治療癌症的抗體的一些實例包括針對HER2抗原之Herceptin® (曲妥珠單抗(trastuzumab))、針對VEGF之Avastin® (貝伐單抗(bevacizumab))或針對EGF受體之抗體，諸如(Erbitux®，西妥昔單抗(cetuximab))及Vectibix® (帕尼單抗(panitumumab))。可以投與之其他藥劑包括PD-1、PD-L1、CTLA-4、4-1BB、BTLA、PVRIG、VISTA、TIM-3及LAG-3中之任一者的抗體或其他抑制劑；或其他下游信號傳導抑制劑，例如mTOR及GSK3β抑制劑；及細胞介素，例如干擾素-γ、IL-2及IL-15。其他藥劑之一些特定實例包括：伊匹單抗、帕佐泮尼(pazopanib)、舒尼替尼(sunitinib)、達沙替尼(dasatinib)、派姆單抗、INCR024360、達拉菲尼(dabrafenib)、曲美替尼(trametinib)、阿特珠單抗(MPDL3280A)、厄洛替尼(例如TARCEVA®)、考比替尼(cobimetinib)、納武單抗及賽帕利單抗。用於組合療法之第二抗體或其他藥劑的選擇視待治療之癌症而定。視情況，針對抗原之表現或優先表現進行測試癌症以指導適當抗體之選擇。在一些實施例中，第二抗體之同型係人類IgG1，以便促進效應子功能，諸如ADCC、CDC及吞噬作用。

【0181】可以使用類似組合療法來治療或預防傳染病，諸如病毒、細菌、真菌及寄生蟲性疾病、病症及病況，以及與其相關的病症。例如，

本發明之抗體可以與針對病原體之抗體或針對病原體之疫苗(諸如針對勞斯肉瘤病毒(rous sarcoma virus)之帕利珠單抗(palivizumab))組合。疫苗可以係病原體之蛋白質或其可有效誘導免疫反應之片段。本發明之抗體增強抗體或疫苗針對病原體之免疫反應。本發明之抗體亦可以與離體擴增之T細胞或自然殺手細胞一起投與。

【0182】此等組合療法包括靶向各種病毒生命-循環階段且具有不同作用機制之抗病毒劑，包括(但不限於)以下各者：病毒脫殼之抑制劑(例如金剛胺(amantadine)及金剛乙胺(rimantidine))；逆轉錄酶抑制劑(例如阿昔洛韋(acyclovir)、齊多夫定(zidovudine)及拉米夫定(lamivudine))；靶向整合酶之藥劑；阻斷轉錄因子與病毒DNA之連接的藥劑；影響轉譯之藥劑(例如反義分子) (例如福米韋生(fomivirsen))；調節轉譯/核糖核酸酶功能之藥劑；蛋白酶抑制劑；病毒裝配調節劑(例如利福平(rifampicin))；抗逆轉錄病毒劑，諸如核苷類似物逆轉錄酶抑制劑(例如疊氮胸苷(AZT)、ddl、ddC、3TC、d4T)；非核苷逆轉錄酶抑制劑(例如依法韋侖(efavirenz)、奈韋拉平(nevirapine))；核苷酸類似物逆轉錄酶抑制劑；以及防止病毒粒子釋放之藥劑(例如紮那米韋(zanamivir)及奧司他韋(oseltamivir))。某些病毒感染(例如HIV)之治療及/或預防經常需要一組抗病毒劑(「混合液」)。

【0183】預期與本文所揭示之抗TIGIT抗體中之任一者組合使用的其他抗病毒劑包括(但不限於)以下：阿巴卡韋(abacavir)、阿丹弗(adefovir)、三環癸胺(amantadine)、安普那韋(amprenavir)、安普利近(ampligen)、阿比朵爾(arbidol)、阿紮那韋(atazanavir)、ATRIPLA®、波普瑞韋爾特(boceprevirertet)、西多福韋(cidofovir)、可比韋(combivir)、

地瑞那韋(darunavir)、地拉韋啶(delavirdine)、地達諾新(didanosine)、多可沙諾(docosanol)、依度尿苷(edoxudine)、安卓西他賓(emtricitabine)、恩夫韋地(enfuvirtide)、恩替卡韋(entecavir)、泛昔洛韋(famciclovir)、夫沙那韋(fosamprenavir)、膦甲酸鹽(foscarnet)、膦乙酸鹽(fosfonet)、更昔洛韋(ganciclovir)、伊巴他濱(ibacitabine)、異丙肌苷(imunovir)、碘苷(idoxuridine)、咪喹莫特(imiquimod)、茚地那韋(indinavir)、肌苷(inosine)、各種干擾素(例如聚乙二醇化干擾素α-2a)、洛匹那韋(lopinavir)、洛韋胺(loviride)、馬拉維若(maraviroc)、嗎啉胍(moroxydine)、美替沙腙(methisazone)、奈非那韋(nelfinavir)、多吉美(nexavir)、噴昔洛韋(penciclovir)、帕拉米韋(peramivir)、普可那利(pleconaril)、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、雷特格韋(raltegravir)、利巴韋林(ribavirin)、利托那韋(ritonavir)、普拉咪定(pyramidine)、沙奎那韋(saquinavir)、司他夫定(stavudine)、特拉匹偉(telaprevir)、田諾弗(tenofovir)、替拉那韋(tipranavir)、曲氟尿苷(trifluridine)、三協唯(trizivir)、曲金剛胺(tromantadine)、TRUVADA®、伐昔洛韋(valaciclovir)、纈更昔洛韋(valganciclovir)、維克利諾(vicriviroc)、阿糖腺苷(vidarabine)、韋拉咪定(viramidine)及紮西他濱(zalcitabine)。

【0184】本發明涵蓋本文所揭示之抗TIGIT抗體中之任一者與抗寄生蟲劑組合的用途。此等藥劑包括(但不限於)噻苯達唑(thiabendazole)、雙羥萘酸噻嘧啶、甲苯咪唑、吡喹酮、氯硝柳胺、硫雙二氯酚、奧沙尼喹(oxamniquine)、美曲磷酯(metrifonate)、伊維菌素(ivermectin)、阿苯達唑(albendazole)、二氟甲基鳥氨酸(eflornithine)、美拉胂醇(melarsoprol)、噴他脒(pentamidine)、苯并乙唑(benznidazole)、硝呋莫

司(nifurtimox)及硝基咪唑。熟習此項技術者瞭解可用於治療寄生蟲病症之其他藥劑。

【0185】本發明之實施例涵蓋本文所揭示之抗TIGIT抗體中之任一者與用於治療或預防細菌病症之藥劑之組合的用途。抗細菌劑可以各種方式分類，包括基於作用機制、基於化學結構及基於活性譜。抗細菌劑之實例包括靶向細菌細胞壁(例如，頭胞菌素及青黴素)或細胞膜(例如，多黏菌素)或干擾必需細菌酶(例如，磺醯胺、利福黴素及喹啉)之彼等抗細菌劑。靶向蛋白質合成之大多數抗細菌劑(例如四環素及巨環內酯)為抑菌的，而諸如胺基醣苷之藥劑為殺菌的。分類抗細菌劑之另一方式係基於其靶向特異性；「窄譜」藥劑靶向特定類型之細菌(例如革蘭氏陽性細菌，諸如鏈球菌)，而「廣譜」藥劑具有針對較寬範圍之細菌的活性。熟習此項技術者瞭解適合於在特定細菌感染中使用之抗細菌劑的類型。

【0186】本發明之實施例涵蓋本文所揭示之抗TIGIT抗體中之任一者與用於治療或預防真菌病症之藥劑之組合的用途。抗真菌劑包括多烯(例如兩性黴素(amphotericin)、制黴菌素(nystatin)及鏈黴菌素(pimaricin))；唑類(例如氟康唑(fluconazole)、伊曲康唑(itraconazole)及酮康唑(ketoconazole))；烯丙胺(例如萘替芬(naftifine)及特比萘芬(terbinafine))及嗎啉(例如阿莫羅芬(amorolfine))；及抗代謝物(例如5-氟胞嘧啶)。

【0187】本發明包涵上文中之任一者的醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。

【0188】

V. 其他應用

本發明之抗TIGIT抗體可用於在臨床診斷或治療之情況下或在研究中偵測TIGIT。例如，可以使用抗體偵測TIGIT在T細胞、自然殺手細胞及癌細胞上的存在情況作為個體患有能夠治療之癌症或傳染病的指示。TIGIT在患有癌症或傳染病之個體的T細胞、自然殺手細胞及/或癌細胞上之表現亦提供癌症或傳染病能夠用本發明之抗體治療的指示。抗體亦可以作為研究試劑出售，用於實驗室研究，偵測T細胞、自然殺手細胞及癌細胞及其對各種刺激之反應。在此類用途中，抗體可以用一或多種可偵測信號標記，包括(但不限於)螢光分子、自旋標記之分子、酶或放射性同位素，且可提供於具有所有必需試劑之套組形式以進行針對TIGIT之分析。本發明之抗TIGIT抗體亦可用於純化TIGIT，例如藉由親和力層析法。

【0189】

VI. 套組

針對TIGIT之抗體可以與經描述作為套組之組分用於共同療法中之第二抗體或藥劑中之任一者組合。本文所揭示之揭示內容提供一或多種套組，其含有本文所揭示之抗體中之一或多者以及一或多種醫藥學上可接受之賦形劑或載劑(諸如(但不限於)磷酸鹽緩衝鹽水溶液、水、無菌水、聚乙二醇、聚乙烯吡咯啶酮、卵磷脂、花生油、芝麻油、乳液，諸如油/水乳液或水/油乳液、微乳液、奈米載劑及各種類型的濕潤劑)。諸如醇、油、二醇、防腐劑、調味劑、著色劑、懸浮劑及其類似物之添加劑亦可與載劑、稀釋劑或賦形劑一起包括於本發明之套組中。在一個實施例中，適合用於本文所揭示之抗體組合物中之醫藥學上可接受之載劑係無菌的、無病原體的、及/或在其他方面對於向個體投與係安全的，不存在相關感染及其他過度不良副作用之風險。在套組中，各別藥劑可以在單獨的小瓶中

提供，含有用於組合、隨後投與之說明書或用於分開投與之說明書。套組亦可以包括用於恰當處理及儲存本文所揭示之抗TIGIT抗體中之任一者的書面說明書。

【0190】

VII. 實施例

實施例1。一種特異性結合於人類TIGIT之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含(a)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 36具有至少80%序列一致性之重鏈(HC)互補決定區(CDR) 1、與SEQ ID NO: 37具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 38具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 39具有至少80%序列一致性之輕鏈(LC) CDR1、與SEQ ID NO: 40具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 41具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(b)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 42具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 43具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 44具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 45具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 46具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 47具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(c)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 48具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 49具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 50具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 51具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 52具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與

SEQ ID NO: 53具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(d)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 54具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 55具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 56具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 57具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 58具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 59具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(e)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 60具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 61具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 62具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 64具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(f)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 60具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 66具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(g)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 69具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 55具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 70具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 71具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與

SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；(h)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 72具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 73具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；或(i)重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 74具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 75具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3。

【0191】 實施例2。如實施例1之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含(a)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含與SEQ ID NO: 39之一致性之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的LC-CDR3；(b)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID

NO: 45之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的LC-CDR3；(c)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 50之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列的LC-CDR3；(d)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列的LC-CDR3；(e)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 64之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的LC-CDR3；(f)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 66之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺

基酸序列的LC-CDR3；(g)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 71之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的LC-CDR3；(h)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 72之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的LC-CDR3；或(i)重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 75之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的LC-CDR3。

【0192】 實施例3。如實施例1或2之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含(a)與SEQ ID NO: 1具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 2具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(b)與SEQ ID NO: 3具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 4具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(c)與SEQ ID NO: 5具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 6具有至少80%序列一致性之輕鏈

可變區；(d)與SEQ ID NO: 7具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 8具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(e)與SEQ ID NO: 9具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 10具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(f)與SEQ ID NO: 11具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 12具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(g)與SEQ ID NO: 13具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 14具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(h)與SEQ ID NO: 15具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 16具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(i)與SEQ ID NO: 17具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 12具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(j)與SEQ ID NO: 76具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 77具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(k)與SEQ ID NO: 78具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 77具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；(l)與SEQ ID NO: 76具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 79具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；或(m)與SEQ ID NO: 78具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 79具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區。

【0193】 實施例4。如實施例1至3中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段為單株抗體。

【0194】 實施例5。如實施例1至4中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段為嵌合、人類化或面飾化抗體。

【0195】 實施例6。如實施例5之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該嵌合抗體包含人類IgG1/κ Fab恆定域。

【0196】 實施例7。如實施例1至3中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段為人類抗體。

【0197】 實施例8。如前述實施例中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段抑制TIGIT與CD155之結合，視情況其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段以約0.1 nM至約10 nM、約0.1 nM至約5 nM、約0.2 nM至約2 nM、約0.2 nM至約0.8 nM、約0.4 nM至約0.8 nM或約0.6 nM至約0.8 nM之IC_{50}抑制該結合，如實例1中所量測。

【0198】 實施例9。如實施例1至5或7至8中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體進一步包含選自變異體人類IgG1、變異體人類IgG2、變異體人類IgG3或變異體人類IgG4之變異體重鏈恆定區，及視情況存在之人類輕鏈恆定區。

【0199】 實施例10。如實施例9之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該變異體重鏈恆定區相對於該野生型重鏈恆定區具有增強或降低之效應子功能。

【0200】 實施例11。如實施例10之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該變異體人類IgG重鏈恆定區包含SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 99或SEQ ID NO: 101。

【0201】 實施例12。如實施例1至5或7至8中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體進一步包含野生型人類IgG重鏈恆定區，及視情況存在之人類輕鏈恆定區。

【0202】實施例13。如實施例12之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該野生型人類IgG重鏈恆定區包含SEQ ID NO: 94。

【0203】實施例14。如實施例12或13之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含人類輕鏈κ恆定區，視情況其中該人類輕鏈恆定區包含SEQ ID NO: 95。

【0204】實施例15。如實施例1至5或7至8之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體具有重鏈及輕鏈，其中(a)該重鏈具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列，且該輕鏈具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列；或(b)該重鏈具有包含SEQ ID NO: 96之胺基酸序列，且該輕鏈具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列；或(c)該重鏈具有包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，且該輕鏈具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列；或(d)該重鏈具有包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，且該輕鏈具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列。

【0205】實施例16。如前述實施例中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其結合片段(a)具有藉由表面電漿子共振量測之約0.01×10^{-11} M至約100×10^{-11} M、約0.1×10^{-11} M至約100×10^{-11} M、約0.1×10^{-11} M至約10×10^{-11} M、約1×10^{-11} M至約100×10^{-11} M或約1×10^{-11} M至約10×10^{-11} M的平衡結合常數(KD)；(b)以約0.2 nM至約2 nM、約0.2 nM至約0.8 nM、約0.6 nM至約0.8 nM或約0.6 nM至約0.8 nM之半最大抑制劑濃度(IC50)阻斷可溶性人類CD155配體與細胞表面人類TIGIT之結合，如實例1中所量測；(c)結合於包括至少以下TIGIT殘基的抗原決定基：(i)SEQ ID NO: 80之D72及SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、S80及K82中之至少一者，(ii)SEQ ID NO: 80之E60及D72及視情況

存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、S80及K82中之至少一者，(iii)SEQ ID NO: 80之D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60及S80中之至少一者，(iv)SEQ ID NO: 80之E60、D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58及S80中之至少一者，或(v)SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82；或(d) (a)、(b)及(c)之任何組合。

【0206】 實施例17。如實施例16之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與如實施例1至17中任一項之抗體或其抗原結合片段競爭結合於TIGIT。

【0207】 實施例18。如實施例16或17之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中過量該抗體或其抗原結合片段與參考抗體競爭結合於TIGIT達至少約55%、60%、65%、70%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%，如在競爭性結合分析中所量測，其中該參考抗體包含具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列的重鏈及具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列的輕鏈。

【0208】 實施例19。一種特異性結合於人類TIGIT之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列的重鏈及具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列的輕鏈。

【0209】 實施例20。一種抑制TIGIT與CD155之結合的方法，其包含使TIGIT與如前述實施例中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段接觸。

【0210】 實施例21。一種治療經病原體感染之個體的方法，其包含

向該個體投與有效療法或治療有效量的如前述實施例中任一項之抗體。

【0211】 實施例22。如實施例21之方法，其中該病原體係病毒、細菌、真菌或原蟲。

【0212】 實施例23。如實施例22之方法，其中該病原體係HIV、SIV、肝炎、疱疹病毒、腺病毒、流感病毒、黃病毒、埃可病毒(echovirus)、鼻病毒、科沙奇病毒(coxsackie virus)、冠狀病毒、呼吸道融合性病毒、腮腺炎病毒、輪狀病毒、麻疹病毒、風疹病毒、小病毒、痘瘡病毒、HTLV病毒、登革熱病毒(dengue virus)、乳頭狀瘤病毒、軟疣病毒、脊髓灰白質炎病毒、狂犬病病毒、JC病毒、蟲媒腦炎病毒、衣原體、立克次體細菌(rickettsial bacteria)、分枝桿菌、葡萄球菌、鏈球菌、肺炎球菌、腦膜炎球菌、淋球菌(conococci)、克雷伯氏菌(klebsiella)、變形桿菌、沙雷氏菌(serratia)、假單胞菌、軍團桿菌(legionella)、白喉、沙門氏菌(salmonella)、桿菌、霍亂(cholera)、破傷風、肉毒中毒、炭疽、瘟疫、鉤端螺旋體病及萊姆病(Lyme disease)細菌。

【0213】 實施例24。如實施例21至23任一項之方法，其中該個體係用誘導針對該病原體之免疫反應的疫苗治療，該免疫反應係藉由該抗體增強。

【0214】 實施例25。如實施例24之方法，其中該疫苗包含該病原體之蛋白質或其片段。

【0215】 實施例26。如實施例21至25中任一項之方法，其中向該個體進一步投與針對該病原體之第二抗體，其中該第二抗體之針對該病原體之效應子介導之細胞毒性係藉由該抗體增強。

【0216】 實施例27。如實施例21至26中任一項之方法，其中向該個

體進一步投與抗病毒劑、抗寄生蟲劑、抗細菌劑或抗真菌劑中之一或多者。

【0217】 實施例28。一種治療癌症或實現癌症預防的方法，其包含向患有癌症或具有患癌症風險之個體投與有效療法或治療有效量之如前述實施例中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段中之任一者。

【0218】 實施例29。如實施例28之方法，其中該癌症為血液科惡性疾病、實體腫瘤、梅克爾細胞癌、尿道上皮癌、頭頸部鱗狀細胞癌、B細胞淋巴瘤、子宮癌、子宮頸癌、睪丸癌、胃腸道癌、膀胱癌、骨癌、骨髓癌、皮膚癌、膽囊癌、心臟癌、肺癌、唾液腺癌、腎上腺癌、甲狀腺癌、神經節癌、中樞神經系統(CNS)及周邊神經系統(PNS)癌症以及造血系統之癌症、免疫系統之癌症。

【0219】 實施例30。如實施例28或29之方法，其中向該個體投與由該抗體或其抗原結合片段活化之腫瘤浸潤性T細胞。

【0220】 實施例31。如實施例28至30中任一項之方法，其中向該個體投與誘導針對該癌症之免疫反應的疫苗，該免疫反應係藉由該抗體或其抗原結合片段增強。

【0221】 實施例32。如實施例31之方法，其中該疫苗包含在癌細胞之表面上表現的抗原或其片段。

【0222】 實施例33。如實施例28至32中任一項之方法，其中向該個體投與自然殺手細胞，其針對該癌症之細胞毒性係藉由該抗體或其抗原結合片段增強。

【0223】 實施例34。如實施例28至33中任一項之方法，其中向該個體進一步投與針對在癌症細胞之表面上表現的抗原的第二抗體，藉此針對

該癌症之該第二抗體的效應子介導之細胞毒性係藉由該抗體或其抗原結合片段增強。

【0224】 實施例35。如實施例28至33中任一項之方法，其中向該個體進一步投與針對在免疫細胞之表面上表現的抗原的第二抗體。

【0225】 實施例36。如實施例35之方法，其中該免疫細胞係T細胞或自然殺手細胞。

【0226】 實施例37。如實施例35或36之方法，其中該抗原為CTLA-4、PD-1或PD-L1。

【0227】 實施例38。如實施例28至37中任一項之方法，其中向該個體進一步投與一或多種選自由化學療法、放射、基於細胞之療法及外科手術組成之群的療法。

【0228】 實施例39。如實施例28至38中任一項之方法，其中向該個體進一步投與一或多種免疫檢查點受體或配體的抑制劑。

【0229】 實施例40。如實施例39之方法，其中該一或多種免疫檢查點受體或配體係選自由以下組成之群：CTLA-4、PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、PVRIG、BTLA、VISTA、CD96、$A_{2a}R$、$A_{2b}R$、$A_{2a}/A_{2b}R$、精胺酸酶、CD39、CD73、IDO及TDO。

【0230】 實施例41。如實施例39之方法，其中該抑制劑係選自由以下組成之群：伊匹單抗、曲美單抗、納武單抗、派姆單抗、拉立珠單抗、西米普利單抗、替雷利珠單抗、賽帕利單抗、度伐利尤單抗及阿特珠單抗。

【0231】 實施例42。一種醫藥組合物，其包含如實施例1至19中任一項之抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑。

【0232】實施例43。一種結合於人類TIGIT之抗原決定基之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，該抗原決定基包含以下SEQ ID NO 80中之至少一個胺基酸殘基：T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。

【0233】實施例44。如實施例43之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合於包括至少以下TIGIT殘基之抗原決定基：(i) SEQ ID NO: 80之D72及SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、S80及K82中之至少一者；(ii) SEQ ID NO: 80之E60及D72及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、S80及K82中之至少一者；(iii) SEQ ID NO: 80之D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60及S80中之至少一者；(iv) SEQ ID NO: 80之E60、D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58及S80中之至少一者；或(v) SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。

【0234】實施例45。如實施例43或44之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與如實施例1至19中任一項之抗體或其抗原結合片段競爭結合於TIGIT。

【0235】實施例46。如實施例43或44之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中過量該抗體或其抗原結合片段與參考抗體競爭結合於TIGIT達至少約55%、60%、65%、70%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%，如在競爭性結合分析中所量測，其中該參考抗體包含具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列的重鏈及具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列的輕鏈。

【0236】實施例47。如實施例1至19中任一項之抗TIGIT抗體或其

抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合於人類TIGIT之抗原決定基，該抗原決定基包含以下SEQ ID NO 80中之至少一個胺基酸殘基：T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。

【0237】 預期本說明書通篇中所給出的每一個最大數值限制包括每一個較低的數值限制，如同該等較低的數值限制明確地書寫在本文中一樣。本說明書通篇中所給出的每一個最小數值限制包括每一個較高的數值限制，如同該等較高的數值限制明確地書寫在本文中一樣。本說明書通篇所給出的每一個數值範圍將包括落在此類較寬數值範圍內之每一個較窄數值範圍，如同此類較窄數值範圍全部明確地書寫在本文中一般。

【0238】 上文或下文引用之所有專利申請案、網站、其他公開案、寄存編號及其類似者出於所有目的以全文引用之方式併入，其引用程度如同各個別物件特定且個別地指示為如此以引用之方式併入一般。若在不同時間序列之不同型式與寄存編號相關，則意謂在本申請案之有效申請日時與寄存編號相關之型式。有效申請日意指若適用，早於提及寄存編號之優先權申請案之實際申請日或申請日。同樣，若在不同時間公開公開案、網站或其類似物之不同型式，則除非另外指明，否則意謂在本申請案之有效申請日時最近公開之版本。除非另外特別指示，否則本發明之任何特徵、步驟、元件、實施例或態樣可與任何其他組合使用。

【0239】 儘管出於清楚及理解之目的已藉助於說明及實例相當詳細地描述本發明，但顯而易見可在所附申請專利範圍之範疇內實踐某些改變及修改。

【0240】

實例

以下實例論述針對人類TIGIT之抗體的產生、表徵及人類化，且亦提供可以藉以測定本申請案中所描述之抗體的結合特徵的例示性方法。

【0241】

實例1. 產生抗TIGIT抗體

抗TIGIT抗體係自免疫小鼠獲得。具有SEQ ID NO: 83之經His標記之人類TIGIT蛋白質(hTIGIT-His)及具有SEQ ID NO: 85之食蟹獼猴TIGIT蛋白質(cTIGIT-His)胞外域短暫表現於HEK293細胞中且藉由抗His親和力層析法純化。用重組hTIGIT-His及cTIGIT-His蛋白質之混合物對BALB/c小鼠進行RIMMS免疫接種。在最終增強免疫之前，藉由ELISA分析針對免疫原測試血漿效價以確認良好效價。在最終增強免疫之後，收集末端出血連同脾臟、腹股溝、上臂、腋下及頸部淋巴結。將經收集之材料經由B細胞純化，隨後融合，產生用於初始篩選之融合瘤。

【0242】 融合後10天，使用ELISA分析進行融合瘤之初步篩選。384孔ELISA盤塗佈有1 μg/mL hTIGIT-His蛋白，且在阻斷盤後，添加20 μL融合瘤上清液且使其結合至經TIGIT塗佈之盤。在室溫下培育之後，洗滌盤且接著使用HRP結合之山羊抗小鼠IgG抗體偵測與經TIGIT塗佈之盤結合的抗體。

【0243】 接著將陽性融合瘤細胞擴展至48孔盤中，且收集上清液以在ELISA分析中測試抗體特異性。ELISA盤塗佈有hTIGIT-His蛋白或cTIGIT-His蛋白，且CD47-His蛋白(Acro Biosystems，Cat#CD7-H5227)用作對照計數器分析，以取消選擇識別免疫原蛋白His標籤的抗體。接著測試展示與人類及食蟹獼猴TIGIT兩者之陽性結合而對經His標記之對照蛋白質呈陰性的抗體對TIGIT/CD155結合之功能性阻斷。

【0244】將人類TIGIT胞外域融合至小鼠Fc序列，且此hTIGIT-mFc (SEQ ID NO: 87)蛋白質表現於HEK293細胞中且藉由蛋白A親和力層析法純化。使用重組人類CD155 (包括與來自R&D Systems (Cat# 9174-CD-01M)的人Fc序列(hCD155-hFc)融合的胞外域)建立CD155/TIGIT相互作用阻斷試驗。為測試抗體之功能性阻斷活性，使用0.5 μg/mL hTIGIT-mFc蛋白塗佈ELISA盤，在阻斷之後，將融合瘤上清液與0.5 μg/mL hCD155-hFc蛋白一起添加。培育之後，洗滌ELISA盤，且使用HRP結合之山羊抗人類IgG抗體偵測結合的hCD155-hFc。鑑別能夠結合於人類及食蟹獼猴TIGIT兩者之純系且該抗體能夠阻斷CD155/TIGIT相互作用。

【0245】進一步擴增此等純系，且使用蛋白G管柱純化抗體。藉由流式細胞量測術測試此等純化抗體與細胞表面上表現之人類及食蟹獼猴TIGIT之結合。出現表現全長人類TIGIT純系2A7 (Swiss-Prot Q495A1；SEQ ID NO: 80)或全長食蟹獼猴TIGIT純系C10 (Swiss-Prot A0A2K5UW92；SEQ ID NO: 84)的穩定CHO-K1細胞株。對於流動分析，收集細胞且在4℃下在各種濃度之抗體存在(或不存在)下在100 μL HBSS緩衝液中培育1小時。用HBSS洗滌後，用2 μg/mL之經Alexa488標記之山羊抗鼠IgG抗體(ThermoFisher Scientific，Cat#A-11001)在4℃下偵測細胞上的抗體結合持續30分鐘。接著洗滌細胞且再懸浮於PBS中且使用Attune NxT流式細胞儀(ThermoFisher Scientific，Waltham，MA)進行流式細胞量測術。獲得整個單細胞群體螢光強度之幾何平均值。進一步測試能夠結合於細胞表面上所表現之人類及食蟹獼猴TIGIT的抗體對結合於CHO細胞表面上之人類TIGIT的重組人類CD155的阻斷活性。在室溫下，在不同濃度之抗體存在下，將CHO-hTIGIT細胞(10^5個細胞)與2.5 μg/mL

hCD155-Fc蛋白一起培育1小時。在用HBSS緩衝液洗滌之後，用PerCP-eFluor 710結合之抗CD155抗體(ThermoFisher，Cat# 1550-42)偵測hCD155-Fc與hTIGIT-CHO細胞之結合。接著洗滌細胞且對其進行流式細胞量測術分析。**表4**展示抗體與人類及食蟹獼猴TIGIT結合之半最大有效濃度(EC_{50}) (n=2)以及抑制CD155與TIGIT結合之IC_{50}。

表4：純化小鼠抗TIGIT抗體與細胞表面上表現之TIGIT結合

α-TIGIT純系	hTIGIT EC_{50} (nM)	cTIGIT EC_{50} (nM)	hTIGIT/hCD155 IC_{50} (nM)
22B22	0.507	0.580	0.83
21B16	0.498	1.201	1.15
28O12	0.638	0.710	1.16
5J24	0.704	1.634	1.46
21B9	0.506	0.631	1.66
21F8	0.952	1.789	1.67
28P24	0.466	1.260	1.70
24F8	1.306	1.846	1.79
30M18	0.825	1.166	2.19

【0246】基於其對人類及食蟹獼猴TIGIT之結合親和力及其阻斷CD155與TIGIT之結合的能力來選擇前幾名融合瘤細胞株。擴增此等純系之融合瘤且遵循標準程序測定小鼠抗TIGIT抗體之重鏈及輕鏈可變區(分別為VH及VL)序列。抗體21F8、30M18、24F8、5J24、21B9、22B22、28P24、21B16及28O12之成熟VH及VL的胺基酸序列展示於**圖1A-1I**中，其CDR帶下劃線。CDR序列之分配及胺基酸位置之編號係根據Kabat定義。

【0247】**圖1A-1I**中所示之七種抗體以具有小鼠可變域及人類IgG1/κ恆定域之小鼠人類嵌合體形式重組表現。重組蛋白由HEK293細胞表現且藉由蛋白A親和力層析法純化。

【0248】此等嵌合體抗TIGIT抗體與細胞表面過度表現之人類及食蟹獼猴TIGIT的結合能力使用先前所描述之流式細胞量測術分析證實。在

嵌合體抗TIGIT抗體與hTIGIT-CHO或cTIGIT-CHO培育之後，使用Alexa488結合之山羊抗人類IgG抗體(ThermoFisher Scientific，Cat# A-11013)偵測結合之抗體。亦使用如先前所描述之流式分析法測定抑制重組hCD155-hFc與hTIGIT-CHO-K1細胞之結合中的抗體功能活性。測定抗TIGIT嵌合體抗體與人類及食蟹獼猴TIGIT結合之EC_{50}以及抑制hCD155與表現hTIGIT之細胞結合的IC_{50}呈現於**表5**中。

表5：重組抗TIGIT小鼠/人類嵌合體抗體與在CHO-K1細胞表面上過度表現之TIGIT結合，且具有抑制人類CD155與人類TIGIT結合的阻斷活性

α-TIGIT抗體	hTIGIT-CHO EC_{50} (nM)	cTIGIT-CHO EC_{50} (nM)	hTIGIT-CHO/hCD155 IC_{50} (nM)
Ch22B22	0.16	0.24	1.16
Ch21B16	0.12	0.42	0.20
Ch28O12	0.159	0.358	0.48
Ch5J24	0.131	0.212	0.70
Ch21B9	0.102	0.18	0.80
Ch24F8	0.15	0.199	0.62
Ch30M18	0.336	6.138	2.18

【0249】使用流式細胞量測術分析測試嵌合體抗TIGIT抗體與在經分離之人類$CD4^+$及$CD8^+$細胞上內源性表現之TIGIT結合的能力。分別使用RosetteSepTM人類$CD4^+$ T細胞增濃混合液(Stemcell，Cat# 15022)或人類$CD8^+$ T細胞增濃混合液(Stemcell，Cat# 15022)自人類全血中分離人類$CD4^+$或$CD8^+$ T細胞。如**表6**中所示，觀測到與人$CD4^+$或$CD8^+$細胞結合之重組抗TIGIT抗體的可比EC_{50}，其與CHO-K1細胞上過度表現之全長人類TIGIT的結合親和力類似。然而，在純系之間觀測到最大結合活性(MFImax)之差異。

表6：重組抗TIGIT小鼠/人類嵌合體抗體與經分離之人類T細胞結合

α-TIGIT抗體	$CD4^+$ EC_{50} (nM)	$CD4^+$ MFI_{max}	$CD8^+$ EC_{50} (nM)	$CD8^+$ MFI_{max}
Ch24F8	0.130	210	0.177	5800
Ch5J24	0.073	125	0.117	4500
Ch21B9	0.029	150	0.062	4500
Ch22B22	0.097	140	0.175	5000
Ch21B16	0.119	180	0.160	5200
Ch28O12	0.141	190	0.249	7200
Ch30M18	0.197	125	0.293	3500

【0250】測試與食蟹獼猴全血結合之重組抗TIGIT嵌合體抗體以證實抗體與$CD4^+$及$CD8^+$細胞上之內源性食蟹獼猴TIGIT蛋白結合的能力。食蟹獼猴全血與重組抗TIGIT嵌合體抗體一起在20 μg/mL、5 μg/mL、1 μg/mL及0.2 μg/mL下培育。在4℃下培育30分鐘之後，在室溫下進行RBC裂解15分鐘。細胞隨後藉由離心洗滌且收集，且用含有Fc嵌段(BD Biosciences，Cat# 564219)及Live-dead fixable Aqua (Invitrogen，Cat# L34957)之混合液阻斷。用抗人類IgG Fc-生物素(Southern Biotech，Cat# 9040-08)在4℃下偵測細胞結合之抗TIGIT抗體30分鐘，隨後洗滌且離心細胞，且在4℃下與PE結合之抗生蛋白鏈菌素(Invitrogen，Cat# 12-4317-87)進行第二次培育持續30分鐘。野生型人類IgG1抗體用作同型對照且直接結合之抗人類TIGIT-PE (eBiosciences，Cat# 12-9500-42)用作陽性對照。**圖2**展示Ch24F8、Ch28O12及Ch22B22能夠結合於在食蟹獼猴$CD4^+$及$CD8^+$細胞上表現之食蟹獼猴TIGIT。獲得螢光強度之幾何平均值(gMFI)，且資料呈現為gMFI相對於同型對照之倍數。

【0251】使用Bio-Rad ProteOn XPR36儀器，藉由表面電漿子共振(SPR)測定此等重組抗TIGIT抗體與人類TIGIT之動力學結合。重組抗體使用蛋白A塗佈之GLC感測器晶片固定，且使用可溶性經His標記之TIGIT (Acro Biosystems，Cat# No. TIT-H52H3)作為分析物。在25℃下測定結合常數。如**表7**中所示，如藉由平衡解離常數(KD)所量測，純系24F8在所

測試之七種重組抗TIGIT嵌合體抗體中具有最高結合親和力。

表7：重組抗TIGIT抗體對經His標記之人類TIGIT的結合動力學

α-TIGIT抗體	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)
Ch24F8	2.15E+06	7.5E-05	3.5E-11
Ch28O12	1.256E+06	1.135E-03	9.04E-10
Ch30M18	7.27E+05	1.730E-03	2.38E-09
Ch5J24	5.57E+06	2.14E-02	3.85E-09
Ch21B16	1.47E+06	9.29E-03	6.30E-09
Ch21B9	1.05E+07	7.4E-02	7.1E-09
Ch22B22	1.44E+06	1.41E-02	9.78E-09

【0252】

實例2. 產生人類化抗TIGIT抗體

使用CDR移植技術選擇小鼠抗體24F8進行人類化(Queen等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 86:10029-10033, 1989)。24F8之小鼠可變重鏈(VH)及可變輕鏈(VL)序列用於鑑別各鏈之最接近的兩個人類生殖系。對於VH，發現具有70%序列一致性之IGHV4-34*09及具有66%一致性之IGHV4-4*02。對於VL，發現具有70%序列一致性之IGKV1-33*01及具有67%一致性之IGKV3-15*01 (**表8**)。

表8. 人類生殖系及受體之鑑別

可變鏈	人類生殖系	人類/小鼠一致性(%)	人類受體
VH1	IGHV4-34*09	70	AAV40102.1
VH2	IGHV4-4*02	66	ADX65334.1
VL1	IGKV1-33*01	70	ACY78416.1
VL2	IGKV3-15*01	67	ADU32611.1

【0253】 VH鏈中之三個重鏈CDR (HC-CDR)序列及VL鏈中之三個輕鏈CDR (LC-CDR)序列之定位係根據Kabat定義。

【0254】 在GenBank資料庫中搜索VH及VL構架之人類受體(Benson等人, Nucleic Acids Res. 2005, 33, D34-D38)，且鑑別編碼人類cDNA之VH及VL序列(見**表8**)。

【0255】 各人類受體之CDR移植使用VL受體之HC-CDR1 (SEQ ID

NO: 48)、HC-CDR2 (SEQ ID NO: 49)及HC-CDR3 (SEQ ID NO: 50)及LC-CDR1 (SEQ ID NO: 51)、LC-CDR2 (SEQ ID NO: 52)及LC-CDR3 (SEQ ID NO: 53)進行。檢查所得序列是否引入任何潛在轉譯後修飾或化學降解位點，且確認不含此類傾向。亦使用抗體同源性圖形建模鑑別小鼠回復突變之假定殘基。

【0256】設計寡核苷酸且合成為具有兩個VH及兩個VL移植人類受體之人類IgG1/κ恆定域的Fab片段，且插入至載體系統中用於高通量篩選表現水準及生物物理學特性，而無需蛋白質純化(Zhang及Hirama，專利申請公開案US 2012/0178110)。VH1 (SEQ ID NO: 76)或VH2 (SEQ ID NO: 78)與VL1 (SEQ ID NO: 79)或VL2 (SEQ ID NO: 77)之所有四種組合(**圖1J-1M**)連同由小鼠24F8VH (SEQ ID NO: 5)及24F8VL(SEQ ID NO: 6)域及人類IgG1/κ Fab恆定域構築之嵌合體Fab mVH+mVL一起篩選。藉由表面電漿子共振(SPR)使用Biacore 8K儀器，使用經BSA塗佈之晶片捕獲Fab且將可溶經His標記之TIGIT作為分析物來分析以SASA (針對血清白蛋白之單域抗體)融合蛋白分泌之Fab的上清液。五個Fab片段的人類及食蟹獼猴TIGIT之動力學結合資料展示於**表9**中。

表9. 人類化Fab片段之動力學結合親和力資料

Fab	**分析物**	**k_a ($M^{-1}s^{-1}$)**	**k_d (s^{-1})**	**K_D (M)**
mVH+mVL	hTIGIT-His	1.86E+06	2.37E-06	1.27E-12
VH1+VL2 (Hu24F8.1 Fab)		3.08E+06	1.11E-04	3.61E-11
VH2+VL2 (Hu24F8.2 Fab)		2.08E+06	9.39E-05	4.50E-11
VH2+VL1 (Hu24F8.3 Fab)		1.99E+06	4.81E-04	2.42E-10
VH1+VL1 (Hu24F8.4 Fab)		3.05E+06	8.55E-04	2.80E-10
mVH+mVL	cTIGIT-His	1.54E+06	7.28E-04	4.74E-10
VH1+VL2 (Hu24F8.1 Fab)		1.11E+06	1.40E-03	1.26E-09
VH2+VL2 (Hu24F8.2 Fab)		7.42E+05	8.08E-04	1.09E-09
VH2+VL1 (Hu24F8.3 Fab)		9.74E+05	5.85E-03	6.00E-09
VH1+VL1 (Hu24F8.4 Fab)		1.35E+06	1.33E-02	9.81E-09

【0257】此等資料證實，如藉由平衡解離常數(K_D)所量測，

VH1+VL2及VH2+VL2之人類化可變域組合與人類及食蟹獼猴TIGIT結合最緊密，且亦保留小鼠/人類嵌合體Fab之大部分結合親和力。因此，未對含有小鼠構架殘基回復突變的構築體進行研究。選擇此等兩種VH/VL組合(**圖1J**及**圖1K**)分別用於全長Hu24F8.1及Hu24F8.2 IgG1/κ抗體之構築體設計。

【0258】 Hu24F8.1-IgG1.AA及Hu24F8.2-IgG1.AA為IgG1/κ 抗體，其具有含SEQ ID NO: 97之胺基酸序列的重鏈恆定區及含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列的輕鏈恆定區。「IgG1.AA」名稱指示重鏈恆定區在位置234及235(Eu編號)處具有白胺酸至丙胺酸胺基酸取代。相比之下，「IgG1」名稱指示野生型IgG1 Fc區。例如，Hu24F8.2-IgG1為IgG1/κ抗體，其具有含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列的重鏈恆定區及含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列的輕鏈恆定區。此等實例中所用之Hu24F8.1-IgG1.AA、Hu24F8.2-IgG1.AA及Hu24F8.2-IgG1抗體在HEK293或CHO細胞中以重組方式產生且藉由蛋白A親和力層析法純化。

【0259】 藉由SPR使用Biacore T200儀器，使用經抗人類IgG塗佈之晶片捕獲抗體且將可溶性hTIGIT-His或cTIGIT-His作為分析物來分析純化全長抗體Hu24F8.1-IgG1.AA (含VH1+VL2)及Hu24F8.2-IgG1.AA (含VH2+VL2)連同24F8小鼠VH+VL及人類IgG1/κ恆定域(Ch24F8)的全長嵌合體抗體。人類及食蟹獼猴TIGIT之動力學結合資料展示於**表10**中。

表10. 人類化抗體之動力學結合親和力資料

抗體	分析物	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)
Ch24F8	hTIGIT-His	8.53E+05	1.56E-04	1.83E-10
Hu24F8.1-IgG1.AA		1.01E+06	1.45E-04	1.44E-10
Hu24F8.2-IgG1.AA		7.96E+05	1.40E-04	1.76E-10
Ch24F8	cTIGIT-His	6.58E+05	1.09E-03	1.66E-09
Hu24F8.1-IgG1.AA		8.06E+05	1.40E-03	1.74E-09
Hu24F8.2-IgG1.AA		6.79E+05	9.97E-04	1.47E-09

【0260】 全長人類化抗體兩者之動力學結合親和力資料證實，小鼠抗體之結合親和力已完全保留且無需引入任何小鼠構架殘基回復突變。

【0261】

實例3. 抗TIGIT抗體之活體外結合研究

藉由流式細胞量測術檢測抗體Hu24F8.1-IgG1.AA及Hu24F8.2-IgG1.AA與細胞表面上表現之TIGIT的結合。收集細胞表面上表現TIGIT之細胞且在4℃下在不同濃度之抗體存在(或不存在)下在100 μL HBSS緩衝液中培育1小時。用HBSS洗滌後，用2 μg/mL之經Alexa488標記之山羊抗人類IgG抗體(ThermoFisher Scientific，Cat# A-11013)在4℃下偵測細胞上的抗體結合持續30分鐘。接著洗滌細胞且再懸浮於PBS中且使用Attune NxT流式細胞儀(ThermoFisher Scientific，Waltham，MA)進行流式細胞量測術。獲得整個單細胞群體之螢光強度之幾何平均值，且對於短暫轉染，未經轉染細胞用於閘控陽性結合細胞群體以獲得陽性細胞之百分比。藉由GraphPad Prism使用標準4參數曲線擬合計算資料。

【0262】 如上文所描述，表現人類TIGIT (純系2A7)及食蟹獼猴TIGIT (純系C10)之穩定CHO-K1細胞株用於測試Hu24F8.1-IgG1.AA及Hu24F8.2-IgG1.AA分別與人類TIGIT及食蟹獼猴TIGIT結合。Hu24F8.1-IgG1.AA以0.447±0.22 nM (n=8)之EC_{50}結合於人類TIGIT (**圖3A**)且以0.237±0.33 nM (n=6)之EC_{50}結合於食蟹獼猴TIGIT (**圖3B**)。Hu24F8.2-IgG1.AA以0.29±0.15 nM (n=8)之EC_{50}結合於人類TIGIT (**圖3A**)且以0.35±0.16 nM (n=6)之EC_{50}結合於食蟹獼猴TIGIT (**圖3B**)。此等結果顯示，Hu24F8.1-IgG1.AA及Hu24F8.2-IgG1.AA與細胞表面上表現之人類及食蟹獼猴TIGIT緊密結合。

【0263】使用經全長小鼠或大鼠TIGIT表現構築體短暫轉染之CHO-K1細胞檢測Hu24F8.2-IgG1.AA與小鼠TIGIT (Swiss-Prot Q86176；SEQ ID NO: 88)及大鼠TIGIT (Swiss-Prot D3ZTQ2；SEQ ID NO: 89)之結合。使用對照抗體GNE10A7 (美國專利9,499,596 Clark等人, 2016)確認小鼠TIGIT表現，且使用對照抗體eBioscience™ G1GD7 (Invitrogen，Cat# 12-9501-82)確認大鼠TIGIT表現。在用高達30 nM抗體測試時，Hu24F8.2-IgG1.AA不結合於任一小鼠TIGIT (**圖4A**)或大鼠TIGIT (**圖4B**)。

【0264】藉由流式細胞量測術檢查Hu24F8.2-IgG1.AA與經分離之人類$CD8^+$ T細胞之結合。遵循製造商建議使用RosetteSepTM人類$CD8^+$ T細胞增濃混合液(Stemcell，Cat# 15023)分離$CD8^+$ T細胞。細胞隨後用含20U/mL rhIL-2補充劑之抗CD3/CD28珠粒活化7至9天。用人類Fc嵌段(BD Biosciences，Cat# 564219)阻斷活化或未活化之$CD8^+$細胞，隨後進行流式細胞量測術抗體結合分析。如**圖5A**及**圖5B**中所示，Hu24F8.2-IgG1.AA結合至$CD8^+$細胞，分別以0.098±0.013 nM (n=2)之EC_{50}與未活化之細胞結合且以0.14±0.036 nM (n=2)之EC_{50}與活化之$CD8^+$細胞結合。雖然活化及未活化之$CD8^+$細胞的結合EC_{50}類似，但最大結合信號存在顯著差異，此與活化後$CD8^+$的細胞表面上之TIGIT表現升高一致。

【0265】

實例4. 抗TIGIT抗體之活體外阻斷研究

如**實例1**中所描述，使用穩定過度表現人類TIGIT (CHO-hTIGIT)及人類CD155-Fc融合重組可溶性蛋白質(hCD155-Fc)之CHO細胞，藉由流式細胞量測術分析Hu24F8.1-IgG1.AA及Hu24F8.2-IgG1.AA阻斷TIGIT與

CD155之相互作用的活性。如**圖6**中所示，Hu24F8.1-IgG1.AA及Hu24F8.2-IgG1.AA均以劑量依賴性方式阻斷細胞表面上hCD155-Fc與CHO-TIGIT之間的相互作用。Hu24F8.1-IgG1.AA阻斷TIGIT-CD155相互作用之IC_{50}為0.68 nM，且對Hu24F8.2-IgG1.AA，其為0.67 nM。

【0266】

實例5. 抗TIGIT抗體之Jurkat雙報導體細胞株特徵

使用Promega之TIGIT/CD155阻斷生物分析(Promega，Cat# J2205)測定Hu24F8.1-IgG1.AA及Hu24F8.2-IgG1.AA阻斷人類TIGIT受體的功能活性。在此分析中，效應子細胞株為過度表現TIGIT之Jurkat細胞株以及活化於T細胞受體(TCR)下游之螢光素酶報導體。另一穩定細胞株為過度表現人類CD155之CHO-K1細胞株，以及結合且活化TCR之T細胞活化蛋白。此CD155 aAPC/CHO-K1細胞株充當人工抗原呈遞細胞。此等兩種細胞株之共培養藉由CHO-K1細胞上之aAPC引起TCR活化，其將活化報導體構築體，然而，該路徑活化經TIGIT/CD155相互作用抑制，產生低螢光素酶信號。抗TIGIT抗體之存在將抑制TIGIT/CD155相互作用，釋放TIGIT抑制作用，產生增加之螢光素酶信號。根據製造商之方案進行分析，簡言之，效應子Jurkat細胞在細胞培養培育箱中在96孔盤中回收隔夜，連續稀釋測試抗體且添加至效應子細胞中，隨後抗原呈遞CD155 aAPC/CHO-K1細胞。在37℃下5% CO2下共培養6小時之後，添加螢光素酶底物Bio-Glo試劑，且在Envision (PerkinElmer)上讀取發光信號。如**圖7**中所示，Hu24F8.1-IgG1.AA能夠以3.35±0.26 nM (n=3)的EC_{50}依賴性方式增強報導體活性，而Hu24F8.2-IgG1.AA顯示以2.78±0.83 nM (n=3)的EC_{50}。人類IgG1對照未展示任何效應。

【0267】

實例6. 抗TIGIT抗體之分子分析

TIGIT及Fab表現、純化、結晶

人類TIGIT之成熟胞外域的可溶性蛋白質(殘基22-130)以重組方式表現於HEK293細胞中。構築體(SEQ ID NO: 90)含有具有$(Gly)_4$-Ala-$(Gly)_4$連接子之C端六組胺酸標籤，且將天冬醯胺殘基32及101突變成麩醯胺酸以移除N-糖基化位點。澄清之上清液藉由親和力層析法使用Nickel Sepharose Excel (GE Healthcare Life Sciences)管柱純化，接著使用Superdex 200 pg (GE Healthcare Life Sciences)管柱進行尺寸排阻層析法(SEC)純化。濃度為8.4 mg/mL之TIGIT蛋白質係在20 mM Tris pH 7.0、100 mM NaCl之最終緩衝液調配物中，且用液氮急驟冷凍。

【0268】人類IgG1抗體Hu24F8.2-IgG1.AA之可溶性Fab片段(Fab24F8)係如以下製備：藉由番木瓜蛋白酶(Thermo Scientific，Cat. #20341)在磷酸鹽緩衝鹽水中在37℃下分解3小時，隨後在室溫下隔夜分解。使用MabSelect SuRe蛋白A (GE Healthcare Life Sciences)管柱移除裂解之Fc片段，且使用Superdex 200 pg (GE Healthcare Life Sciences)管柱藉由SEC進一步純化流過物。濃度為28 mg/mL之Fab24F8蛋白質係在20 mM Tris pH 7.0、100 mM NaCl之最終緩衝液調配物中，且用液氮急驟冷凍。

【0269】將TIGIT與Fab24F8蛋白質以1:1之莫耳比在4℃下在攪拌下混合60分鐘以形成Fab-TIGIT錯合物，接著使用Superdex 200 pg (GE Healthcare Life Sciences)管柱進行最終SEC純化且將蛋白質溶離液濃度調至44 mg/mL。採用標準篩在大約1500種不同條件下在20℃下將經純化之

錯合物用於結晶試驗。最初獲得之條件使用標準策略進行最佳化，該等標準策略系統地改變關鍵影響結晶之參數。此等條件藉由系統地改變pH或沈澱物濃度來進一步精製。藉由使用沉滴式蒸氣擴散技術將0.1 μL蛋白質溶液(15 mg/mL於20 mM Tris pH 7.0；100 mM NaCl中)與0.1 μL儲集溶液(20% (w/v) PEG3350；0.20 M LiSO4)混合獲得適用於結構闡明之Fab-TIGIT錯合物的晶體。

【0270】

資料收集及結構方案

晶體經急驟冷凍且在100 K之溫度下量測。在Canadian Light Source (CLS，Saskatoon，Canada)使用低溫條件自Fab-TIGIT錯合物的晶體收集X射線繞射資料。晶體屬於空間群P 1。使用電腦軟體程式autoPROC、XDS及AIMLESS處理資料(The CCP4 Suite: Programs for Protein Crystallography. Acta Cryst. D50, 760-763)，參見**表11**。

表11. 用於Fab24F8/TIGIT錯合物之資料收集及處理統計

錯合物	Hu24F8.2 Fab/人類TIGIT ECD
X-射線源	CMCF-ID (**08ID-1,CLS**)
波長[Å]	0.9795
偵測器	PILATUS 6M
溫度[K]	100
空間群	P 1
細胞：a；b；c；[Å]	85.11; 86.83; 87.83
α；β；γ；[°]	94.3; 117.0; 116.1
解析度[Å]	2.24 (2.46-2.24)[1]
唯一反射	53126 (2657)
多重性	2.2 (2.1)
完整性[%]	84.8(76.4)
R_{sym}[%]	6.2 (48.6)
R_{maes}[%]	8.2(64.8)
平均值(I)/σ	9.9 (1.7)

[1]括弧中之值係指最高解析度筐。

【0271】藉由分子置換獲得確定及分析結構所必需的相資訊。Fab

(Bohrmann等人, *J. Alzheimers Dis*. 28:49-69, 2012)及TIGIT (Stengel等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012)之先前解析結構用作檢索模型。結晶不對稱單元中存在三個Fab-TIGIT錯合物分子。根據標準方案分別用程式COOT及套裝軟體CCP4進行後續模型建立及改進。對於自由R因子(交叉驗證最終模型之正確性的量測值)的計算，約4.6%的量測反射被排除在改進程序之外。進行TLS改進(使用CCP4程式REFMAC5)，其產生較低R因子及較高質量之電子密度圖。應用自動產生之局部NCS限制。用COOT之「發現水(Find waters)」算法建立水模型，其藉由將水分子置於輪廓為3.0 σ之Fo-Fc圖的峰中，隨後用REFMAC5進行改進，且用COOT的驗證工具檢查所有水。可疑水清單之準則為：B因子大於80 Å^2，2Fo-Fc圖小於1.2 σ，與最近接觸點的距離小於2.3 Å或大於3.5 Å。73.5-2.24 Å之解析度範圍內之資料處於最終的改進循環中，且R_{cryst}及R_{free} R因子分別為22.3%及26.8%。最終模型之拉馬錢德蘭曲線(Ramachandran Plot)展示所有殘基在最有利區域中為89.8%、額外允許區域中為8.8%及慷慨允許區域中為0.7%。關於概述之概述，參見**表12**。

表12. Fab24F8/TIGIT之細化統計

錯合物	Hu24F8.2 Fab/人類TIGIT ECD
解析度[Å]	73.52-2.24
反射次數(工作/測試)	50688/ 2467
R_{cryst} **[%]**	22.3
R_{free}**[%]**[1]	26.8
總原子數：	
蛋白質	12244
水	427
配體	-
硫酸鹽	30
與理想幾何構型之偏差：[2]	
鍵長度[Å]	0.010
鍵角度[°]	1.47
鍵結之B' [Å^2][3]	1.7
拉馬錢德蘭曲線：[4]	
最有利區域[%]	89.8

額外允許區域[%]	8.8
慷慨允許區域[%]	0.7
不允許區域[%]	0.7

[1]測試集含有4.6之量測反射
[2]與幾何目標值之均方根差
[3]以MOLEMAN計算
[4]以PROCHECK計算

【0272】

與人類TIGIT結合之Fab24F8的結構

在結晶不對稱單元中存在錯合物之三個獨立分子，其原子座標彼此成對重疊，其中對於所有非氫原子，均具有0.53-1.13 Å均方根偏差。最終模型包含以下殘基：Fab重鏈之Gln1至Ser223、Fab輕鏈之Glu1至Cys214及TIGIT之Met22至Ser129。一些短環區域未充分由電子密度界定且不包括於最終模型中。

【0273】 Fab重鏈HC-CDR2及HC-CDR3以及輕鏈的所有三個LC-CDR與TIGIT的大β-片結構形成廣泛的相互作用，即β-股C,C',C''及F以及由SEQ ID NO: 80之多肽鏈^{55}TQVNWEQQDQLLAICNADLGWHISPSFK^{82}及^{109}IYH^{111}組成的環C'C''及C''D (**圖8及9**)。此結合相互作用導致Fab片段與TIGIT (PISA，EMBL-EBI)之間的蛋白質-蛋白質界面之表面積為790±10 Å^2 (n=3)。此相互作用之分子性質為親水性及疏水性兩者。TIGIT殘基Thr55、Gln56、Asn58、Glu60、Asp72、Ser80及Lys82(在**圖9**中展示為桿狀圖)與Fab重鏈及輕鏈CDR之殘基形成直接或水介導之氫鍵相互作用(供體/受體間原子距離不超過3.1 Å)。另外，TIGIT殘基Glu60與Fab輕鏈上之Arg30形成鹽橋(**表13**)。TIGIT疏水性殘基Leu65、Ile68、Leu73、Pro79及Ile109 (在**圖9**中表示為球體)與Fab重鏈及輕鏈之殘基形成凡得瓦爾接觸。

表13. 與Fab24F8之重鏈及輕鏈之互補位殘基形成氫鍵及鹽橋之

TIGIT之抗原決定基殘基

TIGIT抗原決定基		Fab24F8互補位(Kabat編號)		
Thr	55	LC-CDR3	Thr	94
Gln	56	LC-CDR3	Tyr	92
		LC-CDR3	Trp*	96
		HC-CDR3	Tyr*	97
Asn	58	LC-CDR3	Tyr*	92
Glu	60	LC-CDR1	Arg	30
		LC-CDR3	Tyr	92
Asp	72	HC-CDR2	Tyr	50
Ser	80	LC-CDR2	Tyr	53
Lys	82	HC-CDR3	Asn	99

*水介導之氫鍵

【0274】 **圖10A**展示結合於人類TIGIT (表示為分子表面)之人類CD155之N端Ig樣域(SEQ ID NO: 91)的複雜結構之示意圖，如2012年由Stengel等人報導。**圖10B**展示CD155以與**圖10A**相同之定向疊加至結合於TIGIT (各自由分子表面表示)之Fab24F8的晶體結構錯合物之示意圖上。可以清楚地證明，Hu24F8.2或來源於小鼠抗體24F8之其他抗體結合至TIGIT的胞外域將阻斷CD155結合至TIGIT。

【0275】

實例7. 抗TIGIT抗體可單獨或與抗PD-1抗體組合增強T細胞反應

此實例證實，Hu24F8.2-IgG1單獨或與抗PD-1抗體(諸如AB122)組合增強健康或癌症個體人類初級T細胞反應。與同型對照相比，用0.1、1或10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1治療之健康及癌症個體PBMC顯著增加IL-2濃度。在來自健康個體之PBMC中，與單獨用AB122治療相比，用10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1及1 μg/mL抗人類PD-1抗體(AB122，賽帕利單抗)之組合治療具有顯著較高的IL-2水準。

【0276】 自去白細胞系統(Leukoreduction System，LRS)腔室分離來自健康個體之PBMC且自CPT管分離來自癌症個體之PBMC，且在1

ng/mL SEA存在下活體外用0.1、1或10 μg/mL Hu24F8.2、1 μg/mL AB122或10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1與1 μg/mL AB122之組合培養。四天後，藉由細胞學珠粒陣列(CBA)量測上清液中之IL-2濃度。包括IgG1同型作為陰性對照。

方法

【0277】健康個體PBMC自LRS腔室分離，而癌症個體PBMC自CPT管分離。以2×10^6個細胞/毫升之濃度再懸浮PBMC，且將100 μL/孔等分至96孔圓底盤中。將再懸浮於CTS Optimizer培養基中之4×濃縮抗體以50 μL/孔添加到適當孔中：添加Hu24F8.2-IgG1或人類IgG1同型對照，得到最終濃度為0.1、1及10 μg/mL；添加AB122或人類IgG4同型對照，得到最終濃度為1 μg/mL。在37℃、5% CO_2下培育分析盤1小時。將50 μL/孔之4×濃縮葡萄球菌腸毒素A (*Staphylococcal enterotoxin* A，SEA)再懸浮於CTS Optimizer培養基中，添加適當孔中以得到1 ng/mL之最終濃度。將具有200 μL之最終孔體積的分析盤在37℃、5% CO_2下培育4天且收集上清液用於後續定量分泌之IL-2。將上清液1:2稀釋於來自人類可溶蛋白質主緩衝液套組之分析稀釋劑中。根據製造商說明書，使用人類IL-2撓曲套件與人類可溶蛋白質主緩衝液套組進行分析執行、資料獲取及定量。

結果

【0278】驗證來自研究中所用之所有供體的PBMC在非T調節細胞CD4+ T細胞群體上表現響應於CD14+單核球群體之SEA刺激及CD155 (TIGIT之配體)的TIGIT。自10名健康個體及7名癌症個體分離之PBMC在1 ng/mL SEA存在下用0.1、1或10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1單獨、1 μg/mL AB122或10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1與1 μg/mL AB122之組合培養。4天

後，在上清液中量測IL-2濃度。將來自Hu24F8.2治療組之IL-2水準與來自各別IgG1同型對照治療組之IL-2水準相比較，而將來自AB122及Hu24F8.2-IgG1組合治療組之IL-2水準與來自AB122單獨治療組之IL-2水準相比較(表14及表15)。**圖11**中示出一名健康個體(#566)之IL-2水準實例，該實例適用於所有濃度的Hu24F8.2-IgG1。對於這兩名個體而言，與各別IgG1同型對照相比，在所有濃度之Hu24F8.2-IgG1測試下，IL-2分泌存在統計學上顯著之增加。對於健康個體#566，AB122及Hu24F8.2-IgG1組合治療與AB122單獨治療相比，IL-2分泌亦存在統計學上顯著之增加。在群組層面上，在健康個體PBMC及癌症個體PBMC中，與IgG1同型對照相比，用10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1治療之IL-2分泌存在統計學上顯著之增加(圖12A)，且在健康個體PBMC中，與單獨AB122治療相比，用AB122及Hu24F8.2-IgG1組合治療之IL-2分泌存在統計學上顯著之增加(圖12B)。總而言之，0.1 μg/mL Hu24F8.2-IgG1顯著增加6/10名健康個體PBMC樣本(1.1-3.4倍)及2/5名癌症個體PBMC樣本(1.6-1.7倍)中之IL-2濃度(與同型相比)，1 μg/mL Hu24F8.2-IgG1顯著增加7/10名健康個體PBMC樣本(1.4-4.0倍)及4/7名癌症個體PBMC樣本(1.6-2.0倍)中之IL-2濃度(與同型相比)，10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1顯著增加7/10名健康個體PBMC樣本(1.2-4.0倍)及4/7名癌症個體PBMC樣本(1.3-2.0倍)中之IL-2濃度(與同型相比)，及10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1 + AB122增加6/10名健康個體PBMC樣本(1.9-8.3倍)中之IL-2濃度(與單獨AB122相比)。

表14. 於人類健康個體PBMC中之平均[a] IL-2水準(pg/mL)

個體		**223**	**225**	**226**	**229**	**272**	**273**	**566**	**967**	**568**	**969**
0.1 μg/mL	同型	452.8	3282	1552	2629	nt	nt	717.9	643.5	509.6	2625
	Hu24F8.2-IgG1	377.8	3735	2353	3837	nt	nt	1763	998.8	1725	6706
顯著性[b]		NS	*	*	*	-	-	**	NS	***	**
倍數變化		0.83	1.13	1.51	1.45	-	-	2.45	1.55	3.38	2.55

個體		223	225	226	229	272	273	566	967	568	969
1.0 μg/mL	同型	385.2	3276	1920	2517	1035	321.4	735.9	565.1	510.6	2442
	Hu24F8.2-IgG1	394.3	3671	2361	3588	1944	1296	2268	1270	1919	8256
顯著性[b]		NS	NS	NS	*	***	****	***	*	****	****
倍數變化		1.02	1.12	1.22	1.42	1.88	4.03	3.08	2.24	3.75	3.38
10.0 μg/mL	同型	380.1	3269	2017	3448	1385	673.1	804.4	854.9	519.9	2847
	Hu24F8.2-IgG1	294.5	3775	2329	4175	1779	1006	2515	1649	1949	8510
顯著性[b]		NS	*	NS	*	NS	*	****	*	****	****
倍數變化		0.77	1.15	1.15	1.21	1.87	4.03	3.12	1.92	3.74	2.98
同型		430.2	3421	2070	3025	1154	785	928.1	733.3	593.4	nt
AB122		1080	5628	3455	4841	1728	1453	2650	2074	1593	nt
1 μg/ml AB122+ 10 μg/ml Hu24F8.2-IgG1		1222	5762	3672	7077	2240	2067	7665	3614	4510	nt
AB122與 AB122 + Hu24F8.2-IgG1	顯著性[b]	NS	NS	NS	*	*	***	****	****	****	-
	倍數變化	2.84	1.68	1.77	2.33	1.94	2.63	8.25	4.92	7.6	-

[a] n=3技術重複

[b] Sidak多重比較測試之單向方差分析(同型與Hu24F8.2或AB122+Hu24F8.2與AB122)；NS，不顯著；nt，未測試；*$p < 0.05$，**$p < 0.01$，***$p < 0.001$，****$p < 0.0001$。

表15. 於人類癌症個體PBMC中之平均[a] IL-2水準(pg/mL)

個體		3	29	60	33	27	6	12
0.1 μg/mL	同型	nt	84.68	nt	47.44	1097	3438	1349
	Hu24F8.2-IgG1	nt	98.07	nt	87.85	1874	5447	1871
顯著性[b]		-	NS	-	NS	***	****	NS
倍數變化		-	1.16	-	1.85	1.71	1.58	1.38
1.0 μg/mL	同型	1583	95.57	792.3	170	1068	3396	1295
	Hu24F8.2-IgG1	2074	91.4	1557	119.8	1746	5992	2221
顯著性[b]		NS	NS	*	NS	**	****	**
倍數變化		1.31	0.95	1.96	0.7	1.63	1.76	1.71
10.0 μg/mL	同型	1600	95.34	674.7	129.7	1153	3885	1765
	Hu24F8.2-IgG1	1897	53.54	1363	94.35	1934	5073	3089
顯著性[b]		NS	NS	*	NS	**	**	****
倍數變化		1.18	0.56	2.02	0.72	1.67	1.3	1.75

[a] n=3技術重複

[b] Sidak多重比較測試之單向方差分析(同型與Hu24F8.2)；NS，不顯著；nt，未測試；*$p < 0.05$，**$p < 0.01$，***$p < 0.001$，****$p < 0.0001$

【0279】 此等資料證實，Hu24F8.2-IgG1單獨或與抗PD-1抗體(諸如AB122)組合增強健康或癌症個體人類初級T細胞反應。

【0280】

實例8. 藉由活體外補體依賴性細胞毒性(CDC)分析進行抗體表徵

CDC為免疫反應，其中補體系統經由補體組分1q (C1q)與抗體之片段可結晶(Fc)區之結合而參與抗體依賴性細胞殺傷。其引發補體級聯反應，引起攻膜錯合物之形成，該攻膜錯合物損害靶細胞之細胞膜，該靶細胞表現藉由抗體之Fab區識別之靶蛋白。在此實例中，Hu24F8.2-IgG1之CDC活性係使用GS-J1/TIGIT細胞(GenScript M00693)在正常人類血清補體(NHSC，Quidel)存在下表徵。

【0281】 CDC之細胞裂解係藉由細胞效價-Glo®分析套組(Promega)測定，其基於ATP之定量測定培養物中活細胞之數目。簡言之，GS-J1/TIGIT細胞(5000個細胞/孔)用10 μg/mL Hu24F8.2-IgG1或人類IgG1 (Abcam)陰性對照在5%、10%或20% NHSC存在下在37℃、5% CO_2下治療4小時(%NHSC最佳化分析)，或GS-J1/TIGIT細胞(5000個細胞/孔)用連續稀釋之Hu24F8.2-IgG1 (10 μg/mL)或人類IgG1 (10 μg/mL)在5% NHSC存在下在37℃、5% CO_2下治療4小時(CDC濃度效應研究)。作為陽性對照，Raji氏細胞(ATCC CCL-86，(5000個細胞/孔))在5% NHSC存在下在37℃、5%CO_2下用連續稀釋之利妥昔單抗(10 μg/mL)治療4小時。在與測試或對照抗體培育後，添加細胞效價-Glo®試劑，在室溫下將樣品再孵育10-30分鐘，且在PHERAstar FSX (BMG LabTech)上讀取發光。用下式計算歸因於CDC之細胞裂解：細胞溶解%=100%×(1-($RLU_{樣品}$-RLU_{NHSC})/($RLU_{細胞+NHSC}$-RLU_{NHSC}))。

【0282】 系統對照(利妥昔單抗針對Raji氏細胞)之結果在兩項測試

中滿足品質控制標準。然而，在%NHSC最佳化分析或CDC濃度反應研究中未觀測到測試樣品(Hu24F8.2-IgG1)或陰性對照(人類IgG1)之濃度依賴性CDC活性。結果分別概述於表16及表17中。使用對與GS-J1/TIGIT細胞結合之Hu24F8.2-IgG1的FACS分析證實CDC之缺乏並非歸因於靶細胞結合之缺乏所致(資料未示出)。

表16. %NHSC最佳化分析之結果

樣品	濃度(μg/mL)	靶細胞	% NHSC	靶細胞裂解%之平均值	EC_{50} (μg/mL)
利妥昔單抗	10	Raji	5%	93.9	0.414
Hu24F8.2-IgG1	10	GS-J1/TIGIT	5%	5.77	N/A
			10%	17.5	
			20%	-15.5	
人類IgG1	10	GS-J1/TIGIT	5%	5.39	N/A
			10%	8.44	
			20%	-12.3	

表17. CDC濃度反應研究之結果

樣品	最高濃度(μg/mL)	靶細胞	% NHSC	EC_{50} (μg/mL)
利妥昔單抗	10	Raji	5%	0.275
Hu24F8.2-IgG1	10	GS-J1/TIGIT	5%	N/A
人類IgG1	10	GS-J1/TIGIT	5%	N/A

【0283】

實例9. 藉由SPR進行抗體表徵

藉由SPR使用BioRad ProteOn XPR36儀器，使用六種不同密度的經抗人類IgG塗佈之晶片或經蛋白A塗佈之晶片捕獲抗體，來分析Hu24F8.2-IgG1。分析物為可溶性hTIGIT-His (以33.3 μM製備之儲備溶液)，將其稀釋至33 nM作為最高濃度且在Hu24F8.2-IgG1表面上以三倍稀釋系列一式三份地測試。運行緩衝液含有10 mM HEPES、150 mM NaCl、0.05% tween-20及0.2 mg/ml BSA。所有資料在25℃下收集。使用局部Rmax將來自所有六個表面密度之資料全局擬合成1:1相互作用模型。結果展示於**表18**中。

表18. Hu24F8.2-IgG1結合於人類TIGIT之動力學結合常數

捕獲方法	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	K_D (M)
抗人類IgG	2.425(6)E+06	5.97(3)E-05	2.46(1)E-11
蛋白質A	1.671(6)E+06	6.31(4)E-05	3.77(3)E-11

注意：括弧中之數字表示來自6個不同密度表面之全局擬合的最後報告之數位中的標準誤差。

【序列表】

<110> 美商阿克思生物科學有限公司(Arcus Biosciences, Inc.)

<120> 針對TIGIT的抗體

<130> 050658-531001WO

<140> Herewith
<141> Herewith

<150> US 63/033,609
<151> 2020-06-02

<160> 101

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21F8重鏈，胺基酸

<400> 1

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

Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser
20 25 30

Asp Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Glu
35 40 45

Trp Met Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Phe Met Ile Thr Thr Phe Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ala Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21F8輕鏈，胺基酸

<400> 2

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Pro Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Asn Thr Leu Trp
85 90 95

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

<210> 3
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 30M18重鏈，胺基酸

<400> 3

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr
20 25 30

Thr Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Gly His Met Asp Tyr Gly Tyr Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 30M18輕鏈，胺基酸

<400> 4

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Pro Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 5

<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 24F8重鏈，胺基酸

<400> 5

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

Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Trp His Trp Ile Arg Gln Phe Pro Gly Asn Lys Leu Asp
35 40 45

Trp Met Gly Tyr Val His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Phe Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Phe Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Met Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 6
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 24F8輕鏈，胺基酸

<400> 6

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

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

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

<210> 7
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE

<223> 小鼠mAb 5J24重鏈，胺基酸

<400> 7

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

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

Trp Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Ser Tyr Gly Tyr Asp Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 5J24輕鏈，胺基酸

<400> 8

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr
20 25 30

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gly Ser Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 9
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21B9重鏈，胺基酸

<400> 9

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

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

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

Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Thr Asp Thr Val
50 55 60

Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Lys Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21B9輕鏈，胺基酸

<400> 10

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Thr Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 11
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 22B22重鏈，胺基酸

<400> 11

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

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

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

Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
50 55 60

Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Lys Arg Arg Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 12
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 22B22及小鼠mAb 28O12輕鏈，胺基酸

<400> 12

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

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

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 13
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 28P24重鏈，胺基酸

<400> 13

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

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

Phe Ile Gly Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Asp Trp Ile
35 40 45

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

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

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

Val Arg Phe Tyr Gly Asn Tyr Val Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 14
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 28P24輕鏈，胺基酸

<400> 14

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Cys Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Thr Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

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

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 15

<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21B16重鏈，胺基酸

<400> 15

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

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

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

Ala Glu Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Phe Pro Asp Thr Val
50 55 60

Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Lys Arg Arg Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 16
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21B16輕鏈，胺基酸

<400> 16

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

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

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Trp
85 90 95

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

<210> 17
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE

<223> 小鼠mAb 28O12重鏈，胺基酸

<400> 17

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

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

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

Ala Glu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr His Pro Asp Thr Val
50 55 60

Thr Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Lys Arg Arg Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 18
<211> 360
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21F8重鏈，核苷酸

<400> 18

Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys
1 5 10 15

Ala Gly Gly Ala Gly Thr Cys Gly Gly Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly
20 25 30

Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Thr Cys Thr
35 40 45

Cys Ala Gly Thr Cys Thr Cys Thr Gly Thr Cys Cys Cys Thr Cys Ala
50 55 60

Cys Cys Thr Gly Cys Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys Thr Gly Gly
65 70 75 80

Cys Thr Ala Cys Thr Cys Ala Ala Thr Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr
85 90 95

Gly Ala Thr Thr Ala Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Ala Cys Thr
100 105 110

Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Thr Cys Cys
115 120 125

Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly
130 135 140

Thr Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Cys Thr Ala Cys Ala Thr Ala Ala
145 150 155 160

Gly Cys Thr Ala Cys Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Cys Ala Cys
165 170 175

Thr Ala Gly Cys Thr Ala Cys Ala Ala Cys Cys Cys Ala Thr Cys Thr
180 185 190

Cys Thr Cys Ala Ala Ala Ala Gly Thr Cys Gly Ala Ala Thr Cys Thr

195 200 205

Cys Thr Ala Thr Cys Ala Cys Thr Cys Gly Ala Gly Ala Cys Ala Cys
210 215 220

Ala Thr Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Ala Gly Thr Thr Cys
225 230 235 240

Thr Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Thr Thr Gly Ala Ala Thr Thr
245 250 255

Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala
260 265 270

Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Ala Cys Ala Thr Ala Thr Thr Ala Cys
275 280 285

Thr Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Ala Thr Gly Ala
290 295 300

Thr Thr Ala Cys Gly Ala Cys Gly Thr Thr Thr Gly Cys Thr Ala Thr
305 310 315 320

Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Ala
325 330 335

Gly Gly Ala Ala Cys Cys Gly Cys Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly
340 345 350

Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala
355 360

<210> 19
<211> 321
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21F8輕鏈，核苷酸

<400> 19

Gly Ala Cys Ala Thr Thr Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Ala Cys Ala Ala Ala Thr Thr Cys Ala Thr
20 25 30

Gly Thr Cys Ala Ala Cys Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Thr Cys Ala
50 55 60

Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Ala
65 70 75 80

Gly Cys Ala Thr Gly Thr Gly Ala Gly Thr Ala Cys Thr Gly Cys Thr
85 90 95

Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Cys
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Ala Thr Cys
115 120 125

Thr Cys Cys Thr Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Ala Thr Thr
130 135 140

Thr Ala Cys Thr Cys Gly Gly Cys Ala Cys Cys Cys Thr Ala Cys Cys
145 150 155 160

Gly Gly Thr Ala Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys
165 170 175

Thr Gly Ala Thr Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Cys Ala
260 265 270

Thr Thr Ala Thr Ala Ala Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 20
<211> 357
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 30M18重鏈，核苷酸

<400> 20

Gly Ala Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Ala Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Thr
20 25 30

Gly Gly Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Thr
35 40 45

Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Ala Thr Cys Cys Thr
50 55 60

Gly Cys Ala Ala Gly Ala Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala
65 70 75 80

Cys Ala Cys Ala Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys
85 90 95

Ala Cys Cys Ala Thr Gly Cys Ala Cys Thr Gly Gly Gly Thr Gly Ala
100 105 110

Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys Cys Ala Thr Gly Gly Ala Ala Ala
115 120 125

Gly Ala Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Thr
130 135 140

Gly Gly Ala Gly Gly Thr Ala Thr Thr Ala Ala Thr Cys Cys Thr Ala
145 150 155 160

Ala Cys Ala Ala Thr Gly Gly Thr Gly Gly Thr Ala Cys Thr Ala Gly
165 170 175

Thr Thr Ala Thr Ala Ala Cys Cys Ala Gly Ala Ala Gly Thr Thr Thr
180 185 190

Ala Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala Thr
195 200 205

Thr Gly Ala Cys Thr Gly Thr Ala Gly Ala Cys Ala Ala Gly Thr Cys
210 215 220

Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Cys
225 230 235 240

Ala Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Cys Cys Gly Cys Ala Gly Cys Cys
245 250 255

Thr Gly Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Thr Thr Cys
260 265 270

Thr Gly Cys Ala Gly Thr Cys Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
275 280 285

Gly Cys Ala Ala Gly Ala Thr Cys Gly Gly Gly Gly Cys Ala Thr Ala
290 295 300

Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Gly Gly Cys Thr Ala Cys Gly Thr
305 310 315 320

Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Ala Gly Gly Cys
325 330 335

Ala Cys Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Ala Gly Thr Cys Thr
340 345 350

Cys Cys Thr Cys Ala
355

<210> 21

<211> 321
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 30M18輕鏈，核苷酸

<400> 21

Gly Ala Cys Ala Thr Thr Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Ala Cys Ala Ala Ala Thr Thr Cys Ala Thr
20 25 30

Gly Thr Cys Cys Ala Cys Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Thr Cys Ala
50 55 60

Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Ala
65 70 75 80

Ala Thr Ala Thr Gly Thr Gly Ala Gly Thr Ala Cys Thr Gly Cys Thr
85 90 95

Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Cys
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Ala Thr Cys
115 120 125

Thr Cys Cys Thr Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Ala Thr Thr
130 135 140

Thr Ala Cys Thr Cys Gly Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Ala Cys Cys
145 150 155 160

Gly Gly Thr Ala Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys
165 170 175

Thr Gly Ala Thr Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Cys Ala
260 265 270

Thr Thr Ala Thr Ala Gly Thr Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 22
<211> 366

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 24F8重鏈，核苷酸

<400> 22

Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Thr Cys
1 5 10 15

Ala Gly Gly Ala Gly Thr Cys Ala Gly Gly Ala Cys Cys Thr Gly Ala
20 25 30

Cys Cys Thr Gly Gly Thr Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Thr Cys Thr
35 40 45

Cys Ala Gly Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Ala
50 55 60

Cys Cys Thr Gly Cys Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys Thr Gly Gly
65 70 75 80

Cys Thr Ala Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Ala Gly Thr
85 90 95

Gly Gly Thr Thr Ala Thr Ala Gly Cys Thr Gly Gly Cys Ala Cys Thr
100 105 110

Gly Gly Ala Thr Cys Cys Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Thr Cys Cys
115 120 125

Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Ala Ala Ala Cys Thr Gly Gly Ala Thr
130 135 140

Thr Gly Gly Ala Thr Gly Gly Gly Cys Thr Ala Cys Gly Thr Thr Cys

145 150 155 160

Ala Cys Thr Ala Cys Ala Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Cys Ala Cys
165 170 175

Thr Ala Ala Cys Thr Ala Cys Ala Ala Cys Cys Cys Ala Thr Cys Thr
180 185 190

Cys Thr Cys Ala Ala Ala Ala Gly Thr Cys Gly Ala Ala Thr Cys Thr
195 200 205

Cys Thr Ala Thr Cys Ala Cys Thr Cys Gly Ala Gly Ala Cys Ala Cys
210 215 220

Ala Thr Cys Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Cys Ala Gly Thr Thr Cys
225 230 235 240

Thr Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Thr Thr Gly Ala Ala Thr Thr
245 250 255

Cys Thr Gly Thr Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala
260 265 270

Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Ala Cys Ala Thr Thr Thr Thr Ala Cys
275 280 285

Thr Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ala Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr
290 295 300

Ala Thr Gly Gly Thr Ala Ala Cys Thr Ala Cys Gly Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320

Gly Gly Cys Thr Ala Thr Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly
325 330 335

Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly
340 345 350

Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala
355 360 365

<210> 23
<211> 321
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 24F8輕鏈，核苷酸

<400> 23

Gly Ala Gly Ala Thr Thr Gly Thr Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Ala Cys Ala Ala Ala Thr Thr Cys Ala Thr
20 25 30

Gly Thr Cys Cys Ala Cys Ala Thr Cys Ala Gly Thr Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Thr Cys Ala
50 55 60

Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Ala
65 70 75 80

Gly Gly Ala Thr Gly Thr Gly Ala Gly Ala Ala Cys Thr Gly Cys Thr
85 90 95

Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Cys
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Gly Gly Ala Cys Ala Ala Thr Cys
115 120 125

Thr Cys Cys Thr Ala Ala Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Ala Thr Thr
130 135 140

Thr Ala Thr Thr Cys Gly Gly Cys Ala Thr Cys Cys Thr Ala Cys Cys
145 150 155 160

Gly Gly Thr Ala Cys Ala Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Cys Cys Cys
165 170 175

Thr Gly Ala Thr Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Gly Thr Gly Cys Ala Gly Gly Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Thr Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Ala Thr Ala
260 265 270

Thr Thr Ala Thr Ala Gly Thr Ala Cys Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 24
<211> 360
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 5J24重鏈，核苷酸

<400> 24

Cys Ala Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Gly Cys Thr
20 25 30

Gly Gly Thr Ala Ala Gly Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Thr
35 40 45

Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr
50 55 60

Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala
65 70 75 80

Cys Ala Cys Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Ala Ala Cys Cys Ala Cys
85 90 95

Thr Gly Gly Ala Thr Ala Gly Gly Thr Thr Gly Gly Gly Thr Ala Ala
100 105 110

Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Cys Ala
115 120 125

Thr Gly Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Thr
130 135 140

Gly Gly Ala Gly Ala Thr Ala Thr Thr Thr Ala Cys Cys Cys Thr Gly
145 150 155 160

Gly Ala Gly Gly Thr Gly Gly Thr Thr Ala Thr Ala Cys Thr Ala Ala
165 170 175

Cys Thr Ala Cys Ala Ala Thr Gly Ala Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys
180 185 190

Ala Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala Cys
195 200 205

Thr Gly Ala Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys
210 215 220

Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Cys
225 230 235 240

Ala Thr Gly Thr Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys
245 250 255

Thr Gly Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Thr Cys
260 265 270

Thr Gly Cys Cys Ala Thr Cys Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
275 280 285

Gly Cys Ala Ala Gly Ala Thr Cys Cys Thr Ala Thr Gly Gly Thr Thr
290 295 300

Ala Cys Gly Ala Cys Cys Thr Thr Thr Ala Thr Gly Cys Thr Ala Thr
305 310 315 320

Gly Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Ala

325 330 335

Gly Gly Ala Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly
340 345 350

Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala
355 360

<210> 25
<211> 321
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 5J24輕鏈，核苷酸

<400> 25

Gly Ala Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Cys Thr Cys Cys Thr Thr
20 25 30

Ala Thr Cys Thr Gly Cys Cys Thr Cys Thr Cys Thr Gly Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Thr Cys Ala Gly Thr Cys Thr Cys Ala
50 55 60

Cys Thr Thr Gly Thr Cys Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Cys Ala
65 70 75 80

Gly Gly Ala Ala Ala Thr Thr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Thr Ala Cys
85 90 95

Thr Thr Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Cys Thr Thr Cys Ala Gly Cys
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Gly Ala Thr Gly Gly Ala Ala Cys
115 120 125

Thr Ala Thr Thr Ala Ala Ala Cys Gly Cys Cys Thr Gly Ala Thr Cys
130 135 140

Thr Ala Cys Gly Cys Cys Gly Cys Ala Thr Cys Cys Ala Cys Thr Thr
145 150 155 160

Thr Ala Gly Gly Thr Thr Cys Thr Gly Gly Thr Gly Thr Cys Cys Cys
165 170 175

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Ala Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Thr Cys Ala Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Ala Thr Thr Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Gly Thr Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Thr Ala Cys Ala Ala Thr Ala
260 265 270

Thr Gly Ala Thr Ala Gly Thr Thr Ala Thr Cys Cys Gly Thr Thr Cys
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Cys Thr Gly Gly Gly Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 26
<211> 357
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21B9重鏈，核苷酸

<400> 26

Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr
20 25 30

Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr
50 55 60

Gly Thr Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr
65 70 75 80

Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Thr Ala Thr
85 90 95

Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Cys Thr Thr Gly Gly Gly Thr Thr Cys

100 105 110

Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Ala
115 120 125

Gly Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys
130 135 140

Gly Cys Ala Gly Ala Ala Ala Thr Thr Ala Gly Thr Ala Gly Thr Gly
145 150 155 160

Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Thr Thr Ala Cys Ala Cys Cys Thr Ala
165 170 175

Cys Thr Ala Thr Ala Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly
180 185 190

Ala Cys Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala
195 200 205

Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Ala Ala Thr Gly Cys
210 215 220

Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys
225 230 235 240

Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys
245 250 255

Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys
260 265 270

Gly Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
275 280 285

Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Gly Ala Cys Gly Gly Gly
290 295 300

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Gly Gly Thr Ala Thr Gly Gly Ala
305 310 315 320

Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala
325 330 335

Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr
340 345 350

Cys Cys Thr Cys Ala
355

<210> 27
<211> 321
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21B9輕鏈，核苷酸

<400> 27

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys Thr
20 25 30

Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Ala
50 55 60

Ala Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ala Gly Cys Ala Thr Thr Ala Gly Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr
85 90 95

Thr Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Gly
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys
115 120 125

Thr Ala Ala Thr Ala Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys
130 135 140

Thr Ala Thr Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Ala Cys Thr Thr
145 150 155 160

Thr Gly Cys Ala Ala Ala Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Thr Cys Cys
165 170 175

Ala Thr Cys Ala Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Thr Ala Cys Ala Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Thr Gly Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Cys Ala
260 265 270

Thr Ala Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 28
<211> 357
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 22B22重鏈，核苷酸

<400> 28

Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr
20 25 30

Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr
50 55 60

Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr
65 70 75 80

Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Thr Ala Thr
85 90 95

Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Cys Thr Thr Gly Gly Gly Thr Thr Cys
100 105 110

Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Ala
115 120 125

Gly Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys
130 135 140

Gly Cys Ala Gly Ala Ala Ala Thr Thr Ala Gly Thr Ala Gly Thr Gly
145 150 155 160

Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Thr Thr Ala Cys Ala Cys Cys Thr Ala
165 170 175

Cys Thr Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly
180 185 190

Ala Cys Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala
195 200 205

Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Ala Ala Thr Gly Cys
210 215 220

Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys
225 230 235 240

Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys
245 250 255

Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys
260 265 270

Gly Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr

275 280 285

Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Gly Ala Cys Gly Gly Gly
290 295 300

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Gly Cys Thr Ala Thr Gly Gly Ala
305 310 315 320

Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala
325 330 335

Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr
340 345 350

Cys Cys Thr Cys Ala
355

<210> 29
<211> 321
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 22B22輕鏈，核苷酸

<400> 29

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys Thr
20 25 30

Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Ala
50 55 60

Ala Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ala Gly Cys Ala Thr Thr Ala Gly Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr
85 90 95

Thr Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Gly
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys
115 120 125

Thr Ala Ala Thr Ala Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys
130 135 140

Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Ala Cys Thr Thr
145 150 155 160

Thr Gly Cys Ala Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Thr Cys Cys
165 170 175

Ala Thr Cys Ala Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Thr Ala Cys Ala Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Thr Gly Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Cys Ala
260 265 270

Thr Ala Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 30
<211> 354
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 28P24重鏈，核苷酸

<400> 30

Cys Ala Gly Gly Thr Cys Cys Ala Gly Cys Thr Gly Cys Ala Gly Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Thr Gly Ala Ala Cys Thr
20 25 30

Gly Gly Thr Ala Ala Gly Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Thr
35 40 45

Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Thr Cys Cys Thr

50 55 60

Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Gly Ala Thr Ala
65 70 75 80

Cys Ala Cys Cys Thr Thr Cys Ala Cys Thr Ala Ala Cys Thr Ala Cys
85 90 95

Thr Thr Thr Ala Thr Ala Gly Gly Thr Thr Gly Gly Gly Thr Ala Ala
100 105 110

Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Cys Ala
115 120 125

Thr Gly Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr
130 135 140

Gly Gly Ala Gly Ala Thr Ala Thr Thr Thr Ala Cys Cys Cys Thr Gly
145 150 155 160

Gly Ala Gly Gly Thr Gly Gly Thr Thr Ala Thr Ala Cys Thr Ala Ala
165 170 175

Cys Thr Ala Cys Ala Ala Thr Gly Ala Gly Ala Ala Gly Thr Thr Cys
180 185 190

Ala Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Ala Cys Ala Cys
195 200 205

Thr Gly Ala Cys Thr Gly Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys
210 215 220

Cys Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Ala Gly Cys Cys Thr Ala Cys
225 230 235 240

Ala Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Cys
245 250 255

Thr Gly Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Thr Cys
260 265 270

Thr Gly Cys Cys Ala Thr Cys Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
275 280 285

Gly Thr Ala Ala Gly Ala Thr Thr Cys Thr Ala Thr Gly Gly Thr Ala
290 295 300

Ala Cys Thr Ala Cys Gly Thr Gly Thr Thr Thr Gly Cys Thr Thr Ala
305 310 315 320

Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Cys Thr
325 330 335

Cys Thr Gly Gly Thr Cys Ala Cys Thr Gly Thr Cys Thr Cys Thr Gly
340 345 350

Cys Ala

<210> 31
<211> 321
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 28P24輕鏈，核苷酸

<400> 31

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Gly Thr Cys Thr
20 25 30

Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Ala
50 55 60

Ala Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Ala Ala
65 70 75 80

Ala Ala Cys Cys Ala Thr Thr Ala Gly Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr
85 90 95

Thr Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Gly
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys
115 120 125

Thr Ala Ala Thr Ala Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys
130 135 140

Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Ala Cys Thr Thr
145 150 155 160

Thr Gly Cys Ala Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Thr Cys Cys
165 170 175

Ala Thr Cys Ala Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Thr Ala Cys Ala Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Thr Gly Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Cys Ala
260 265 270

Thr Ala Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 32
<211> 357
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21B16重鏈，核苷酸

<400> 32

Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr
20 25 30

Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr
50 55 60

Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr
65 70 75 80

Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Ala Gly Thr Ala Cys Cys Thr Ala Thr
85 90 95

Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Cys Thr Thr Gly Gly Gly Thr Thr Cys
100 105 110

Gly Cys Cys Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Ala
115 120 125

Gly Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys
130 135 140

Gly Cys Ala Gly Ala Ala Ala Thr Thr Ala Gly Thr Ala Gly Thr Gly
145 150 155 160

Gly Thr Gly Gly Thr Ala Cys Thr Thr Ala Cys Ala Cys Cys Thr Ala
165 170 175

Cys Thr Thr Thr Cys Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly
180 185 190

Ala Cys Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala
195 200 205

Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Ala Ala Thr Gly Cys
210 215 220

Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys

225 230 235 240

Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys
245 250 255

Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys
260 265 270

Gly Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
275 280 285

Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Gly Ala Cys Gly Ala Gly
290 295 300

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Gly Cys Thr Ala Thr Gly Gly Ala
305 310 315 320

Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala
325 330 335

Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr
340 345 350

Cys Cys Thr Cys Ala
355

<210> 33
<211> 321
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 21B16輕鏈，核苷酸

<400> 33

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys Thr
20 25 30

Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Ala
50 55 60

Ala Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ala Gly Cys Ala Thr Thr Ala Gly Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr
85 90 95

Thr Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Gly
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys
115 120 125

Thr Ala Ala Thr Ala Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys
130 135 140

Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Ala Cys Thr Thr
145 150 155 160

Thr Gly Cys Ala Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Thr Cys Cys
165 170 175

Ala Thr Cys Ala Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Thr Ala Cys Ala Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Gly Thr Gly Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Cys Ala
260 265 270

Thr Ala Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala

<210> 34
<211> 357
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 28O12重鏈，核苷酸

<400> 34

Gly Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Thr Gly Gly

1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Thr Thr
20 25 30

Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Gly Gly
35 40 45

Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Cys Cys Thr
50 55 60

Gly Thr Gly Cys Ala Gly Cys Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Thr
65 70 75 80

Cys Ala Cys Thr Thr Thr Cys Ala Gly Thr Ala Ala Cys Thr Ala Thr
85 90 95

Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Cys Thr Thr Gly Gly Gly Thr Thr Cys
100 105 110

Gly Thr Cys Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Ala
115 120 125

Gly Ala Gly Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys
130 135 140

Gly Cys Ala Gly Ala Ala Ala Thr Thr Ala Gly Thr Gly Gly Thr Gly
145 150 155 160

Gly Thr Gly Gly Thr Ala Gly Thr Thr Ala Cys Ala Cys Gly Thr Ala
165 170 175

Cys Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly
180 185 190

Ala Cys Gly Gly Gly Cys Cys Gly Ala Thr Thr Cys Ala Cys Cys Ala
195 200 205

Thr Cys Thr Cys Cys Ala Gly Ala Gly Ala Cys Ala Ala Thr Gly Cys
210 215 220

Cys Ala Ala Gly Ala Ala Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Thr Ala Cys
225 230 235 240

Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Gly Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys
245 250 255

Thr Gly Ala Gly Gly Thr Cys Thr Gly Ala Gly Gly Ala Cys Ala Cys
260 265 270

Gly Gly Cys Cys Ala Thr Gly Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr
275 280 285

Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Ala Ala Cys Gly Ala Cys Gly Gly Gly
290 295 300

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Gly Cys Thr Ala Thr Gly Gly Ala
305 310 315 320

Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Thr Cys Ala Ala Gly Gly Ala
325 330 335

Ala Cys Cys Thr Cys Ala Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Thr Cys Thr
340 345 350

Cys Cys Thr Cys Ala
355

<210> 35
<211> 322
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 小鼠mAb 28012輕鏈，核苷酸

<400> 35

Gly Ala Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Ala Ala Cys Cys Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys Thr
20 25 30

Thr Gly Cys Thr Gly Cys Ala Thr Cys Thr Cys Cys Thr Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr Thr Ala Cys Thr Ala Thr Thr Ala
50 55 60

Ala Thr Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Thr Ala Ala
65 70 75 80

Gly Ala Gly Cys Ala Thr Thr Ala Gly Cys Ala Ala Ala Thr Ala Thr
85 90 95

Thr Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Ala Gly
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Cys
115 120 125

Thr Ala Ala Thr Ala Ala Gly Cys Thr Thr Cys Thr Thr Ala Thr Cys
130 135 140

Thr Ala Cys Thr Cys Thr Gly Gly Ala Thr Cys Cys Ala Cys Thr Thr
145 150 155 160

Thr Gly Cys Ala Ala Thr Cys Thr Gly Gly Ala Ala Thr Thr Cys Cys
165 170 175

Ala Thr Cys Ala Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Gly Cys
180 185 190

Ala Gly Thr Gly Gly Ala Thr Cys Thr Gly Gly Thr Ala Cys Ala Gly
195 200 205

Ala Thr Thr Thr Cys Ala Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Cys Ala Thr
210 215 220

Cys Ala Gly Thr Ala Gly Cys Cys Thr Gly Gly Ala Gly Cys Cys Thr
225 230 235 240

Gly Ala Ala Gly Ala Thr Thr Thr Thr Gly Cys Ala Ala Thr Gly Thr
245 250 255

Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Ala
260 265 270

Thr Ala Ala Thr Gly Ala Ala Thr Ala Cys Cys Cys Gly Thr Gly Gly
275 280 285

Ala Cys Gly Thr Thr Cys Gly Gly Thr Gly Gly Ala Gly Gly Cys Ala
290 295 300

Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Ala Ala Thr Cys Ala Ala
305 310 315 320

Ala Cys

<210> 36
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>

<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21F8 HC-CDR1

<400> 36

Ser Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5

<210> 37
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21F8 HC-CDR2

<400> 37

Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21F8 HC-CDR3

<400> 38

Phe Met Ile Thr Thr Phe Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 39
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21F8 LC-CDR1

<400> 39

Lys Ala Ser Gln His Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 40
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21F8 LC-CDR2

<400> 40

Ser Ala Pro Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 41
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21F8 LC-CDR3

<400> 41

Gln Gln His Tyr Asn Thr Leu Trp Thr
1 5

<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 30M18 HC-CDR1

<400> 42

Glu Tyr Thr Met His
1 5

<210> 43
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 30M18 HC-CDR2

<400> 43

Gly Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 30M18 HC-CDR3

<400> 44

Ser Gly His Met Asp Tyr Gly Tyr Val Tyr
1 5 10

<210> 45
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 30M18 LC-CDR1

<400> 45

Lys Ala Ser Gln Tyr Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 46
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 30M18 LC-CDR2

<400> 46

Ser Pro Ser Tyr Arg Tyr Thr

1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 30M18 LC-CDR3

<400> 47

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 48
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 24F8 HC-CDR1

<400> 48

Ser Gly Tyr Ser Trp His
1 5

<210> 49
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 24F8 HC-CDR2

<400> 49

Tyr Val His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 50
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 24F8 HC-CDR3

<400> 50

Met Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 51
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 24F8 LC-CDR1

<400> 51

Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 52
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 24F8 LC-CDR2

<400> 52

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 24F8 LC-CDR3

<400> 53

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Gln Trp Thr
1 5

<210> 54
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 5J24 HC-CDR1

<400> 54

Asn His Trp Ile Gly
1 5

<210> 55
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 5J24及

mAb 28P24 HC-CDR2

<400> 55

Asp Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 56
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 5J24 HC-CDR3

<400> 56

Ser Tyr Gly Tyr Asp Leu Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 57

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 5J24 LC-CDR1

<400> 57

Arg Ala Ser Gln Glu Ile Ser Gly Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 58
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 5J24 LC-CDR2

<400> 58

Ala Ala Ser Thr Leu Gly Ser
1 5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 5J24 LC-CDR3

<400> 59

Leu Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 60
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21B9及

mAb 22B22 HC-CDR1

<400> 60

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 61
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21B9 HC-CDR2

<400> 61

Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Thr Asp Thr Val Thr
1 5 10 15

Gly

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21B9 HC-CDR3

<400> 62

Lys Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 63
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21B9、mAb 22B22、

mAb 21B16、mAb 21B16及mAb 28O12 LC-CDR1

<400> 63

Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 64
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>

<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21B9 LC-CDR2

<400> 64

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Thr
1 5

<210> 65
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21B9、mAb 22B22、

mAb 28P24、mAb 21B16及mAb 28O12 LC-CDR3

<400> 65

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 22B22 HC-CDR2

<400> 66

Glu Ile Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Thr
1 5 10 15

Gly

<210> 67
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 22B22、mAb 21B16及mAb 28O12 HC-CDR3

<400> 67

Lys Arg Arg Asp Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 68
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 22B22、mAb 28P24、

mAb 21B16及

mAb 28O12 LC-CDR2

<400> 68

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 69
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 28P24 HC-CDR1

<400> 69

Asn Tyr Phe Ile Gly
1 5

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 28P24 HC-CDR3

<400> 70

Phe Tyr Gly Asn Tyr Val Phe Ala Tyr
1 5

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 28P24 LC-CDR1

<400> 71

Arg Ala Ser Lys Thr Ile Ser Lys Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 72
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21B16 HC-CDR1

<400> 72

Thr Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 73
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 21B16 HC-CDR2

<400> 73

Glu Ile Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Thr Tyr Phe Pro Asp Thr Val Thr
1 5 10 15

Gly

<210> 74
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 28O12 HC-CDR1

<400> 74

Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 75
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> mAb 28O12 HC-CDR2

<400> 75

Glu Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Tyr His Pro Asp Thr Val Thr
1 5 10 15

Gly

<210> 76
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Hu24F8.1及HU24F8.4重鏈，胺基酸

<400> 76

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Val His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 77
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Hu24F8.1及HU24F8.2輕鏈，胺基酸

<400> 77

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Gln Trp
85 90 95

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

<210> 78
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Hu24F8.2及HU24F8.3重鏈，胺基酸

<400> 78

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Tyr Val His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HU24F8.3及Hu24F8.4輕鏈，胺基酸

<400> 79

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Thr Ala
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Gln Trp
85 90 95

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

<210> 80
<211> 244
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> hTIGIT全長，胺基酸

<400> 80

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> 81
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 成熟人類TIGIT，胺基酸

<400> 81

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> 82
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> hTIGIT胞外域，胺基酸

<400> 82

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> 83
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> hTIGIT-His，胺基酸

<400> 83

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 Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ala Gly Gly Gly Gly His His His His His His His His His His
115 120 125

<210> 84
<211> 312
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cTIGIT全長，胺基酸

<400> 84

Met Ala Phe Leu Val Ala Pro Pro Met Gln Phe Val Tyr Leu Leu Lys
1 5 10 15

Thr Leu Cys Val Phe Asn Met Val Phe Ala Lys Pro Gly Phe Ser Glu
20 25 30

Thr Val Phe Ser His Arg Leu Ser Phe Thr Val Leu Ser Ala Val Gly
35 40 45

Tyr Phe Arg Trp Gln Lys Arg Pro His Leu Leu Pro Val Ser Pro Leu
50 55 60

Gly Arg Ser Met Arg Trp Cys Leu Phe Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu
65 70 75 80

Arg Gln Ala Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr
85 90 95

Thr Gly Asn Ile Ser Ala Lys Lys Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys

100 105 110

His Leu Ser Ser Thr Met Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln
115 120 125

His Asp His Ser Leu Leu Ala Ile Arg Asn Ala Glu Leu Gly Trp His
130 135 140

Ile Tyr Pro Ala Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly
145 150 155 160

Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys
165 170 175

Thr Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Arg Gly Arg Ile Phe Leu
180 185 190

Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu His Ser Ala Arg Phe Gln Ile
195 200 205

Pro Leu Leu Gly Ala Met Ala Met Met Leu Val Val Ile Cys Ile Ala
210 215 220

Val Ile Val Val Val Val Leu Ala Arg Lys Lys Lys Ser Leu Arg Ile
225 230 235 240

His Ser Val Glu Ser Gly Leu Gln Arg Lys Ser Thr Gly Gln Glu Glu
245 250 255

Gln Ile Pro Ser Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu
260 265 270

Ala Ala Pro Ala Gly Leu Cys Gly Glu Gln Gln Gly Asp Asp Cys Ala
275 280 285

Glu Leu His Asp Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Ser
290 295 300

Cys Ser Phe Phe Thr Glu Thr Gly
305 310

<210> 85
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cTIGIT-His胞外域，胺基酸

<400> 85

Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Lys Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Met Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln His Asp His Ser Leu Leu Ala Ile
35 40 45

Arg Asn Ala Glu Leu Gly Trp His Ile Tyr Pro Ala Phe Lys Asp Arg
50 55 60

Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Met
65 70 75 80

Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly
85 90 95

Thr Tyr Arg Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly His His His His His His His His His
115 120 125

His

<210> 86
<211> 323
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人類CD155之成熟胞外域，胺基酸

<400> 86

Trp Pro Pro Pro Gly Thr Gly Asp Val Val Val Gln Ala Pro Thr Gln
1 5 10 15

Val Pro Gly Phe Leu Gly Asp Ser Val Thr Leu Pro Cys Tyr Leu Gln
20 25 30

Val Pro Asn Met Glu Val Thr His Val Ser Gln Leu Thr Trp Ala Arg
35 40 45

His Gly Glu Ser Gly Ser Met Ala Val Phe His Gln Thr Gln Gly Pro
50 55 60

Ser Tyr Ser Glu Ser Lys Arg Leu Glu Phe Val Ala Ala Arg Leu Gly
65 70 75 80

Ala Glu Leu Arg Asn Ala Ser Leu Arg Met Phe Gly Leu Arg Val Glu
85 90 95

Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Leu Phe Val Thr Phe Pro Gln Gly Ser
100 105 110

Arg Ser Val Asp Ile Trp Leu Arg Val Leu Ala Lys Pro Gln Asn Thr

115 120 125

Ala Glu Val Gln Lys Val Gln Leu Thr Gly Glu Pro Val Pro Met Ala
130 135 140

Arg Cys Val Ser Thr Gly Gly Arg Pro Pro Ala Gln Ile Thr Trp His
145 150 155 160

Ser Asp Leu Gly Gly Met Pro Asn Thr Ser Gln Val Pro Gly Phe Leu
165 170 175

Ser Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Leu Trp Ile Leu Val Pro Ser Ser
180 185 190

Gln Val Asp Gly Lys Asn Val Thr Cys Lys Val Glu His Glu Ser Phe
195 200 205

Glu Lys Pro Gln Leu Leu Thr Val Asn Leu Thr Val Tyr Tyr Pro Pro
210 215 220

Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asn Asn Trp Tyr Leu Gly Gln Asn
225 230 235 240

Glu Ala Thr Leu Thr Cys Asp Ala Arg Ser Asn Pro Glu Pro Thr Gly
245 250 255

Tyr Asn Trp Ser Thr Thr Met Gly Pro Leu Pro Pro Phe Ala Val Ala
260 265 270

Gln Gly Ala Gln Leu Leu Ile Arg Pro Val Asp Lys Pro Ile Asn Thr
275 280 285

Thr Leu Ile Cys Asn Val Thr Asn Ala Leu Gly Ala Arg Gln Ala Glu
290 295 300

Leu Thr Val Gln Val Lys Glu Gly Pro Pro Ser Glu His Ser Gly Met
305 310 315 320

Ser Arg Asn

<210> 87
<211> 339
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> hTIGIT-mFc，胺基酸

<400> 87

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 Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ala Gly Gly Gly Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu
115 120 125

Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr
130 135 140

Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys
145 150 155 160

Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val
165 170 175

His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
180 185 190

Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
195 200 205

Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile
210 215 220

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val
225 230 235 240

Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser
245 250 255

Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu
260 265 270

Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro
275 280 285

Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val
290 295 300

Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu
305 310 315 320

His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser
325 330 335

Pro Gly Lys

<210> 88
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> MTIGIT全長，胺基酸

<400> 88

Met His Gly Trp Leu Leu Leu Val Trp Val Gln Gly Leu Ile Gln Ala
1 5 10 15

Ala Phe Leu Ala Thr Ala Ile Gly Ala Thr Ala Gly Thr Ile Asp Thr
20 25 30

Lys Arg Asn Ile Ser Ala Glu Glu Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys
35 40 45

His Phe Ser Ser Asp Thr Ala Glu Val Thr Gln Val Asp Trp Lys Gln
50 55 60

Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Tyr Ser Val Asp Leu Gly Trp His Val
65 70 75 80

Ala Ser Val Phe Ser Asp Arg Val Val Pro Gly Pro Ser Leu Gly Leu
85 90 95

Thr Phe Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr
100 105 110

Tyr His Thr Tyr Pro Gly Gly Ile Tyr Lys Gly Arg Ile Phe Leu Lys
115 120 125

Val Gln Glu Ser Ser Asp Asp Arg Asn Gly Leu Ala Gln Phe Gln Thr
130 135 140

Ala Pro Leu Gly Gly Thr Met Ala Ala Val Leu Gly Leu Ile Cys Leu
145 150 155 160

Met Val Thr Gly Val Thr Val Leu Ala Arg Lys Asp Lys Ser Ile Arg
165 170 175

Met His Ser Ile Glu Ser Gly Leu Gly Arg Thr Glu Ala Glu Pro Gln
180 185 190

Glu Trp Asn Leu Arg Ser Leu Ser Ser Pro Gly Ser Pro Val Gln Thr
195 200 205

Gln Thr Ala Pro Ala Gly Pro Cys Gly Glu Gln Ala Glu Asp Asp Tyr
210 215 220

Ala Asp Pro Gln Glu Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Glu
225 230 235 240

Ser Phe Ile Ala Val Ser Lys Thr Gly
245

<210> 89
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> RTIGIT全長，胺基酸

<400> 89

Met His Gly Trp Met Leu Leu Val Trp Val Gln Gly Leu Thr Glu Thr
1 5 10 15

Ala Phe Leu Ala Ala Gly Ala Thr Ala Gly Thr Met Glu Thr Lys Gly
20 25 30

Asn Ile Ser Ala Glu Glu Gly Gly Ser Val Val Leu Gln Cys His Phe
35 40 45

Ser Ser Asp Thr Ala Glu Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Arg Asp
50 55 60

Gln Leu Leu Ala Val Tyr Ser Val Asp Leu Gly Trp Tyr Val Pro Ser
65 70 75 80

Val Phe Ser Asp Arg Val Val Pro Gly Pro Ser Leu Gly Leu Thr Phe
85 90 95

Gln Ser Leu Thr Thr Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr Tyr His
100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Gly Ile Tyr Lys Gly Arg Ile Phe Leu Lys Val Gln
115 120 125

Glu Ser Ser Val Ala His Phe Gln Ile Ala Leu Pro Gly Gly Thr Met
130 135 140

Ala Ala Val Leu Gly Leu Ile Cys Leu Met Ala Thr Gly Val Thr Val
145 150 155 160

Leu Ala Arg Lys Lys Ser Ile Arg Met His Ser Val Glu Ser Gly Leu
165 170 175

Gly Arg Thr Glu Ala Glu Pro Gln Glu Trp Asn Leu Arg Ile Leu Leu
180 185 190

Ser Pro Ser Gly Pro Val Gln Thr Gln Ala Ala Pro Ala Asp Leu Cys
195 200 205

Gly Glu Gln Thr Glu Asp Asp Tyr Thr Asp Pro Gln Asp Tyr Phe Asn
210 215 220

Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Glu Ser Phe Ile Ala Leu Ser Lys Thr
225 230 235 240

Gly Gln

<210> 90
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> HTIGIT-HIS，胺基酸(結晶學)

<400> 90

Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Gln 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 Gln
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 Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ala Gly Gly Gly Gly His His His His His His
115 120

<210> 91
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> CD155胞外域，胺基酸(結晶學)

<400> 91

Asp Val Val Val Gln Ala Pro Thr Gln Val Pro Gly Phe Leu Gly Asp
1 5 10 15

Ser Val Thr Leu Pro Cys Tyr Leu Gln Val Pro Asn Met Glu Val Thr
20 25 30

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

Ala Val Phe His Gln Thr Gln Gly Pro Ser Tyr Ser Glu Ser Lys Arg
50 55 60

Leu Glu Phe Val Ala Ala Arg Leu Gly Ala Glu Leu Arg Asn Ala Ser
65 70 75 80

Leu Arg Met Phe Gly Leu Arg Val Glu Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys
85 90 95

Leu Phe Val Thr Phe Pro Gln Gly Ser Arg Ser Val Asp Ile Trp Leu
100 105 110

Arg Val Leu Ala
115

<210> 92
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 24F8.2重鏈全長胺基酸IgG1；野生型IMGT等位基因IGHG1*01

<400> 92

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Val His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
450

<210> 93
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 24F8.2輕鏈全長胺基酸序列(κ IMGT等位基因IGKC*01)

<400> 93

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Gln Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 94
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 重鏈恆定區IGG1；野生型IMGT等位基因IGHG1*01 - EU編號118-447

<400> 94

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

Lys 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 Asp Glu
225 230 235 240

Leu 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 Lys
325 330

<210> 95
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 輕鏈恆定區，κ IMGT等位基因IGKC*01

<400> 95

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

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

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

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

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

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

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

<210> 96
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 24F8.2重鏈全長胺基酸IgG1.AA；IMGT等位基因IGHG1*01 (L234A，L235A) eu編號

<400> 96

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Val His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
450

<210> 97
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 重鏈恆定區IgG1.AA；IMGT等位基因IGHG1*01 (L234A，L235A) eu編號

<400> 97

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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala 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 Asp Glu
225 230 235 240

Leu 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 Lys
325 330

<210> 98
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 24F8.2重鏈全長胺基酸IgG1.DLE；IMGT等位基因IGHG1*01 (S239D，A330L，I332E) eu編號

<400> 98

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gly

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Val His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Met Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

405 410 415

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

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

Pro Gly Lys
450

<210> 99
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 重鏈恆定區IgG1.DLE；IMGT等位基因IGHG1*01 (S239D，A330L，I332E) eu編號

<400> 99

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

Lys 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 Asp Glu
225 230 235 240

Leu 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 Lys
325 330

<210> 100
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 24F8.2重鏈全長胺基酸IgG4.P；IMGT等位基因IGHG4*01 (S228P) EU編號

<400> 100

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Ser Trp His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Tyr Val His Tyr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Met Asp Tyr Gly Asn Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

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

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

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

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

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

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

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

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

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

<210> 101
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 重鏈恆定區IgG4.P；IMGT等位基因IGHG4*01 (S228P) eu編號

<400> 101

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 Lys
325

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種特異性結合於人類TIGIT之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含

(a) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 36具有至少80%序列一致性之重鏈(heavy chain；HC)互補決定區(complementarity determining region；CDR) 1、與SEQ ID NO: 37具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 38具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 39具有至少80%序列一致性之輕鏈(light chain；LC) CDR1、與SEQ ID NO: 40具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 41具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；

(b) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 42具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 43具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 44具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 45具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 46具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 47具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；

(c) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 48具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 49具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 50具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 51具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 52具有至少80%序列一致性之LC-CDR2

及與SEQ ID NO: 53具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；

(d) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 54具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 55具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 56具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 57具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 58具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 59具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；

(e) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 60具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 61具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 62具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 64具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；

(f) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 60具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 66具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；

(g) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 69具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 55具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 70具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 71具有至少80%序列一致

性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；

(h) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 72具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 73具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3；或

(i) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含與SEQ ID NO: 74具有至少80%序列一致性之HC-CDR1、與SEQ ID NO: 75具有至少80%序列一致性之HC-CDR2及與SEQ ID NO: 67具有至少80%序列一致性之HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 63具有至少80%序列一致性之LC-CDR1、與SEQ ID NO: 68具有至少80%序列一致性之LC-CDR2及與SEQ ID NO: 65具有至少80%序列一致性之LC-CDR3。

【請求項2】

如請求項1之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含：

(a) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含與SEQ ID NO: 39之一致性之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的LC-CDR3；

(b) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 42之胺基

酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的LC-CDR3；

(c) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 50之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列的LC-CDR3；

(d) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列的LC-CDR3；

(e) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 64之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的LC-CDR3；

(f) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 66之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的LC-CDR3；

(g) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 71之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的LC-CDR3；

(h) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 72之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的LC-CDR3；或

(i) 重鏈可變區，該重鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列的HC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 75之胺基酸序列的HC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列的HC-CDR3；及輕鏈可變區，該輕鏈可變區包含具有包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列的LC-CDR1、具有包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列的LC-CDR2及具有包含SEQ ID NO: 65

之胺基酸序列的LC-CDR3。

【請求項3】

如請求項1或2之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含

(a) 與SEQ ID NO: 1具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 2具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(b) 與SEQ ID NO: 3具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 4具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(c) 與SEQ ID NO: 5具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 6具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(d) 與SEQ ID NO: 7具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 8具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(e) 與SEQ ID NO: 9具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 10具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(f) 與SEQ ID NO: 11具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 12具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(g) 與SEQ ID NO: 13具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 14具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(h) 與SEQ ID NO: 15具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 16具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(i) 與SEQ ID NO: 17具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 12具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(j) 與SEQ ID NO: 76具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 77具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(k) 與SEQ ID NO: 78具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 77具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；

(l) 與SEQ ID NO: 76具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 79具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區；或

(m) 與SEQ ID NO: 78具有至少80%序列一致性之重鏈可變區；及與SEQ ID NO: 79具有至少80%序列一致性之輕鏈可變區。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段為單株抗體。

【請求項5】

如請求項1至4中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段為嵌合、人類化或面飾化抗體。

【請求項6】

如請求項5之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該嵌合抗體包含人類IgG1/κ Fab恆定域。

【請求項7】

如請求項1至3中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段為人類抗體。

【請求項8】

如前述請求項中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段抑制TIGIT與CD155之結合，視情況其中該抗TIGIT抗體或其抗原結合片段以約0.1 nM至約10 nM、約0.1 nM至約5 nM、約0.2 nM至約2 nM、約0.2 nM至約0.8 nM、約0.4 nM至約0.8 nM或

約0.6 nM至約0.8 nM之IC_{50}抑制該結合，如實例1中所量測。

【請求項9】

如請求項1至5或7至8中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體進一步包含選自變異體人類IgG1、變異體人類IgG2、變異體人類IgG3或變異體人類IgG4之變異體重鏈恆定區，及視情況存在之人類輕鏈恆定區。

【請求項10】

如請求項9之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該變異體重鏈恆定區相對於野生型重鏈恆定區具有增強或降低之效應子功能。

【請求項11】

如請求項10之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該變異體人類IgG重鏈恆定區包含SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 99或SEQ ID NO: 101。

【請求項12】

如請求項1至5或7至8中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體進一步包含野生型人類IgG重鏈恆定區，及視情況存在之人類輕鏈恆定區。

【請求項13】

如請求項12之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該野生型人類IgG重鏈恆定區包含SEQ ID NO: 94。

【請求項14】

如請求項12或13之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其包含人類輕鏈κ恆定區，視情況其中該人類輕鏈恆定區包含SEQ ID NO: 95。

【請求項15】

如請求項1至5或7至8之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體具有重鏈及輕鏈，其中

(a)該重鏈具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列，且該輕鏈具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列；或

(b)該重鏈具有包含SEQ ID NO: 96之胺基酸序列，且該輕鏈具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列；或

(c)該重鏈具有包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，且該輕鏈具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列；或

(d)該重鏈具有包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，且該輕鏈具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列。

【請求項16】

如前述請求項中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其結合片段

(a)具有藉由表面電漿子共振量測之約0.01×10^{-11} M至約100×10^{-11} M、約0.1×10^{-11} M至約100×10^{-11} M、約0.1×10^{-11} M至約10×10^{-11} M、約1×10^{-11} M至約100×10^{-11} M或約1×10^{-11} M至約10×10^{-11} M的平衡結合常數(KD)；

(b)以約0.2 nM至約2 nM、約0.2 nM至約0.8 nM、約0.6 nM至約0.8 nM或約0.6 nM至約0.8 nM之半最大抑制劑濃度(IC50)阻斷可溶性人類CD155配體與細胞表面人類TIGIT之結合，如實例1中所量測；

(c)結合於包括至少以下TIGIT殘基的抗原決定基：

(i) SEQ ID NO: 80之D72及SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、S80及K82中之至少一者，

(ii) SEQ ID NO: 80之E60及D72及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、S80及K82中之至少一者，

(iii) SEQ ID NO: 80之D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60及S80中之至少一者，

(iv) SEQ ID NO: 80之E60、D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58及S80中之至少一者，或

(v) SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82；或

(d) (a)、(b)及(c)之任何組合。

【請求項17】

如請求項16之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與如請求項1至17中任一項之抗體或其抗原結合片段競爭結合於TIGIT。

【請求項18】

如請求項16或17之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中過量該抗體或其抗原結合片段與參考抗體競爭結合於TIGIT達至少約55%、60%、65%、70%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%，如在競爭性結合分析中所量測，其中該參考抗體包含具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列的重鏈及具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列的輕鏈。

【請求項19】

一種特異性結合於人類TIGIT之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其

包含具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列的重鏈及具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列的輕鏈。

【請求項20】

一種抑制TIGIT與CD155之結合的方法，其包含使TIGIT與如前述請求項中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段接觸。

【請求項21】

一種治療癌症或實現癌症預防的方法，其包含向患有癌症或具有患癌症風險之個體投與有效療法或治療有效量之如前述請求項中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段中之任一者。

【請求項22】

如請求項21之方法，其中該癌症為血液科惡性疾病、實體腫瘤、梅克爾細胞癌(Merkel cell carcinoma)、尿道上皮癌、頭頸部鱗狀細胞癌、B細胞淋巴瘤、子宮癌、子宮頸癌、睪丸癌、胃腸道癌、膀胱癌、骨癌、骨髓癌、皮膚癌、膽囊癌、心臟癌、肺癌、唾液腺癌、腎上腺癌、甲狀腺癌、神經節癌、中樞神經系統(central nervous system；CNS)及周邊神經系統(peripheral nervous system；PNS)癌症以及造血系統之癌症、免疫系統之癌症。

【請求項23】

如請求項21或22之方法，其中向該個體投與由該抗體或其抗原結合片段活化之腫瘤浸潤性T細胞。

【請求項24】

如請求項21至23中任一項之方法，其中向該個體投與誘導針對該癌症之免疫反應的疫苗，該免疫反應係藉由該抗體或其抗原結合片段增強。

【請求項25】

如請求項24之方法，其中該疫苗包含在癌細胞之表面上表現的抗原或其片段。

【請求項26】

如請求項21至25中任一項之方法，其中向該個體投與自然殺手細胞，該等細胞針對該癌症之細胞毒性係藉由該抗體或其抗原結合片段增強。

【請求項27】

如請求項21至26中任一項之方法，其中向該個體進一步投與針對在癌症細胞之表面上表現的抗原的第二抗體，藉此針對該癌症之該第二抗體的效應子介導之細胞毒性係藉由該抗體或其抗原結合片段增強。

【請求項28】

如請求項21至26中任一項之方法，其中向該個體進一步投與針對在免疫細胞之表面上表現的抗原的第二抗體。

【請求項29】

如請求項28之方法，其中該免疫細胞係T細胞或自然殺手細胞。

【請求項30】

如請求項27或28之方法，其中該抗原為CTLA-4、PD-1或PD-L1。

【請求項31】

如請求項21至30中任一項之方法，其中向該個體進一步投與一或多種選自由化學療法、放射、基於細胞之療法及外科手術組成之群的療法。

【請求項32】

如請求項21至31中任一項之方法，其中向該個體進一步投與一或多

種免疫檢查點受體或配體的抑制劑。

【請求項33】

如請求項30之方法，其中該一或多種免疫檢查點受體或配體係選自由以下組成之群：CTLA-4、PD-1、PD-L1、TIM-3、LAG-3、PVRIG、BTLA、VISTA、CD96、$A_{2a}R$、$A_{2b}R$、$A_{2a}/A_{2b}R$、精胺酸酶、CD39、CD73、IDO及TDO。

【請求項34】

如請求項32之方法，其中該抑制劑係選自由以下組成之群：伊匹單抗(ipilimumab)、曲美單抗(tremelimumab)、納武單抗(nivolumab)、派姆單抗(pembrolizumab)、拉立珠單抗(lambrolizumab)、西米普利單抗(cemiplimab)、替雷利珠單抗(tislelizumab)、賽帕利單抗(zimberelimab)、度伐利尤單抗(durvalumab)及阿特珠單抗(atezolizumab)。

【請求項35】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至19中任一項之抗體或其抗原結合片段及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項36】

一種結合於人類TIGIT之抗原決定基之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，該抗原決定基包含以下SEQ ID NO 80中之至少一個胺基酸殘基：T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。

【請求項37】

如請求項36之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合於包括至少以下TIGIT殘基之抗原決定基：

(i) SEQ ID NO: 80之D72及SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、S80及K82中之至少一者；

(ii) SEQ ID NO: 80之E60及D72及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、S80及K82中之至少一者；

(iii) SEQ ID NO: 80之D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60及S80中之至少一者；

(iv) SEQ ID NO: 80之E60、D72及K82及視情況存在之SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58及S80中之至少一者；或

(v) SEQ ID NO: 80之T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。

【請求項38】

如請求項36或37之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段與如請求項1至19中任一項之抗體或其抗原結合片段競爭結合於TIGIT。

【請求項39】

如請求項36或37之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中過量該抗體或其抗原結合片段與參考抗體競爭結合於TIGIT達至少約55%、60%、65%、70%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%，如在競爭性結合分析中所量測，其中該參考抗體包含具有包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列的重鏈及具有包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列的輕鏈。

【請求項40】

如請求項1至19中任一項之抗TIGIT抗體或其抗原結合片段，其中該

抗體或其抗原結合片段結合於人類TIGIT之抗原決定基，該抗原決定基包含以下SEQ ID NO 80中之至少一個胺基酸殘基：T55、Q56、N58、E60、D72、S80及K82。

21F8 VH

SDVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIRQFPGNKLEWMGYISYSGS
ITYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARFMITTFAMDYWGQGTAV
TVSS

21F8 VL

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSAPYRYTGV
PDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYNTLWTFGGGTKLEIK

图1A

30M18 VH

EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKTSGYTFTEYTMHWVKQSHGKSLEWIGGINPNNGGT
SYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYYCARSGFYDYGYVYWGQGTTLT
VSS

30M18 VL

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQYVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSPSYRYTGV
PDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLEIK

图1B

24F8 VH

SDVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNKLDWMGYVHYSGS
TNYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARYDYGNYGGAYDYWGQGT
SVTVSS

24F8 VL

ETVMTQSPKFMSTSVGDRVSITCKASQDVRTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGV
PDRFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQYYSTQWTFGGGTKLEIK

[图1C]

5J24 VH

QVQLQQSGAELVRPGTSVKMSCKAAGYTFTNYWTGWVKQRPGHGLEWIGDIYPGGGYT
NYNEKFKGKATLTADTSSSTAYMYLSSLTSEDSATYYCARSYGYDLYAMDYWGQGTSV
TVSS

5J24 VL

DIQMTQSPSSLSASLGERVSLTCRASQEISGYLSWLQQKPDGTIKRLIYAASTLGSGV
PKRFSGSRSGSDYSLTISSLESEDFADYYCLQYDSYPFTFGAGTKLELK

[图1D]

21B9 VH

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCLASGFTFSSYAMSWVRQSPEKRLEWVAEISSGGSYT
YYPDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRSEDTAMYYCARKRRDYYGMDYWGQGTSVT
VSS

21B9 VL

DVQTTQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQTGI
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYYCQQHNEYPWTFGGGTKLEIK

【表1B】

22B22 VH

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYAMSWVRQSPEKRLEWVAEISSGGSYT
YYPDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRSEDTAMYYCARKRRDYYAMDYWGQGTSVT
VSS

22B22 VL

DVQTTQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGI
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYYCQQHNEYPWTFGGGTKLEIK

【表1F】

28P24 VH

QVQLQQSGAELVRPGTSVKYSCKAAGYTFTNYFIGWVKQRPGHGLDWIGDIYPGGGYI
NYNEKFKGKATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEDSATYYCVRFYGNYVFAYWGQGTLVTV
SA

28P24 VL

DVQTTQSPSCLAASPGETITINCRASKTISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGI
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNEYPWTFGGGTKLEIK

图1G

21B16 VH

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMSWVRQSPEKRLEWVAEISSGGTYI
YFPDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRSEDTAMYYCARKRRDYYAMDYWGQGTSVT
VSS

21B16 VL

DVQTTQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGI
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQHNEYPWTFGGGTKLEIK

图1H

28C12 VH

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSNYAMSWVRQSPEKRLEWVAEISGGGSYT
YTPDTVTGRFTISRDNAKNTLYLEMSSLRSEDTAMYYCARKRRDYYAMDYWGQGTSVT
VSS

28C12 VL

DVQTTQSPSYLAASPGETITINCRASKSISKYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGI
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYYCQQHNEYPWTFGGGTKLEIK

（图 11）

Hu24F8.1 VH

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVYGYSISGYSWHWIRQPPGKGLEWIGYVHYSGSTN
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMDYGNYGGAMDYWGQGTLVT
VSS

Hu24F8.1 VL

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQDVRTAVAWYQQKPGQAPRLLIYSASYRYTGIP
ARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYSTQWTFGGGTKVEIK

（图 12）

Hu24F8.2 VH

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGYSISSGYSWHWVRQPPGKGLEWIGYVHYSGSI
NYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYDYGNYGGAYDYWGQGTL
VTVSS

Hu24F8.2 VL

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQDVRTAVAWYQQKPGQAPRLLIYSASYRYTGI
PARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYYSIQWTFGGGTKVEIK

（表1K）

Hu24F8.3 VH

QVQLQESGPGLVKPSGTLSLTCAVSGYSISSGYSWHWVRQPPGKGLEWIGYVHYSGSIN
YNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYDYGNYGGAYDYWGQGTLVT
VSS

Hu24F8.3 VL

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVRTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYT
GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYYSIQWTFGGGTKLEIK

（表1L）

Hu24F8.4 VH

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVYGYSISSGYSWHWIRQPPGKGLEWIGYVHYSGSTN
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARYDYGNYGGAYDYWGQGTLVT
VSS

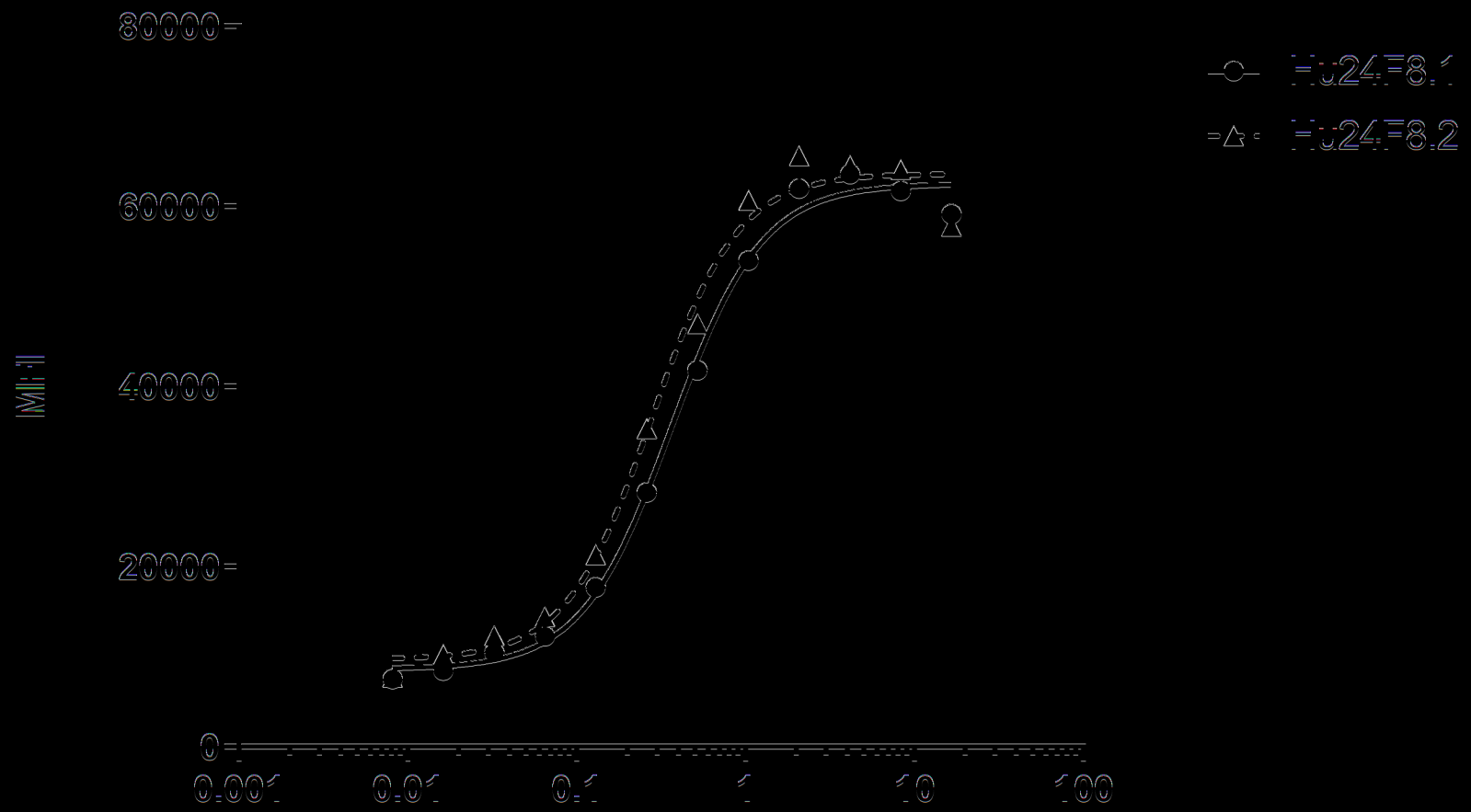
Hu24F8.4 VL

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVRTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYT
GVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYYSTQWTFGGGTKLEIK

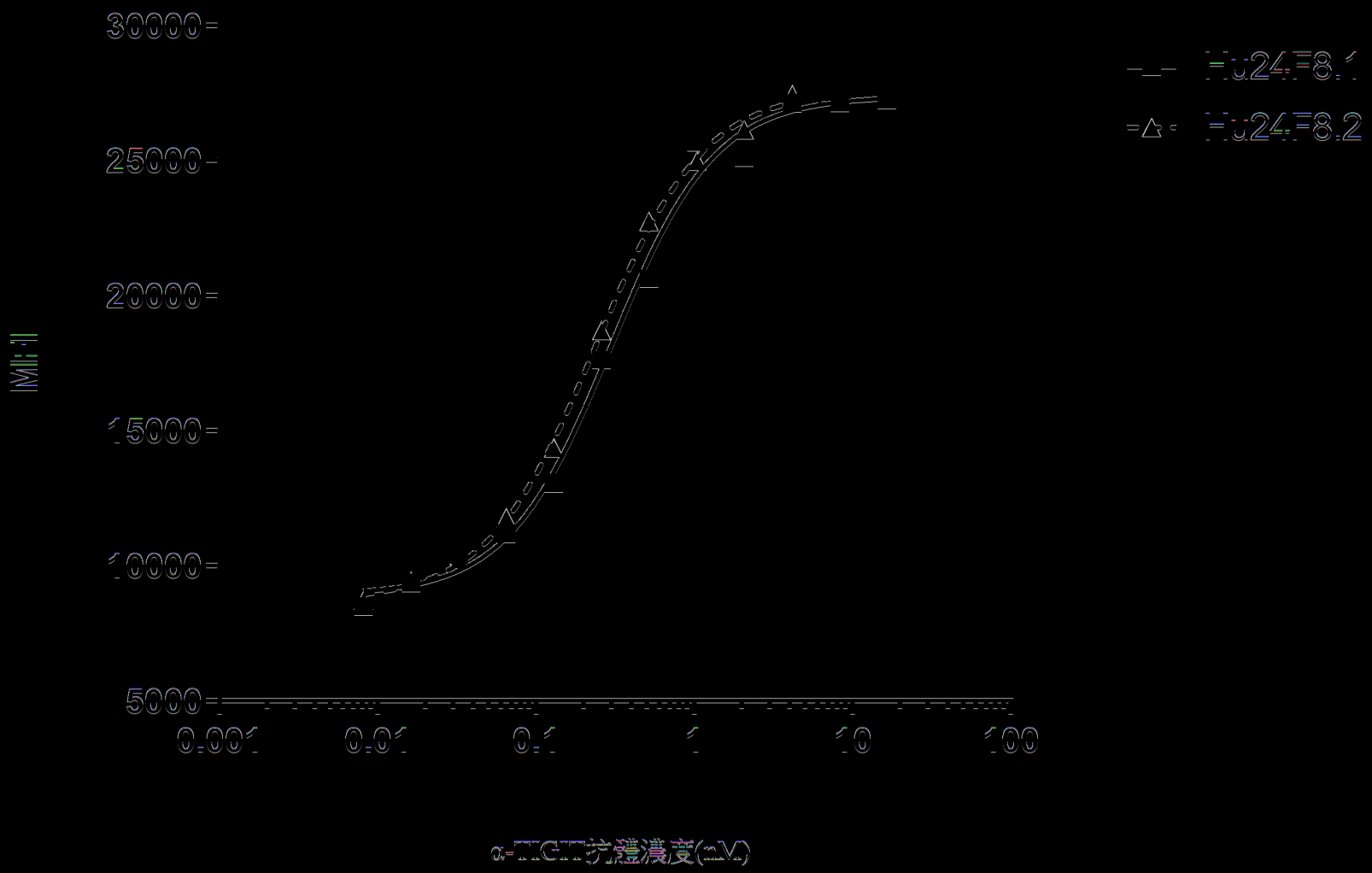
[表1M]


CD8
gMFI PE相對於同型之倍數變化
20
5.0
2.5
0.0
Ch24F8
Ch28O12
Ch30V18
Ch5J24
Ch22B22
TIGIT PE
○ 137nM
= 34nM
△ 7nM
▽ 1.4nM
◇ 陽性對照
CD4
gMFI PE相對於同型之倍數變化
18
4
2
0
Ch24F8
Ch28O12
Ch30V18
Ch5J24
Ch22B22
TIGIT PE
○ 137nM
= 34nM
△ 7nM
▽ 1.4nM
◇ 陽性對照

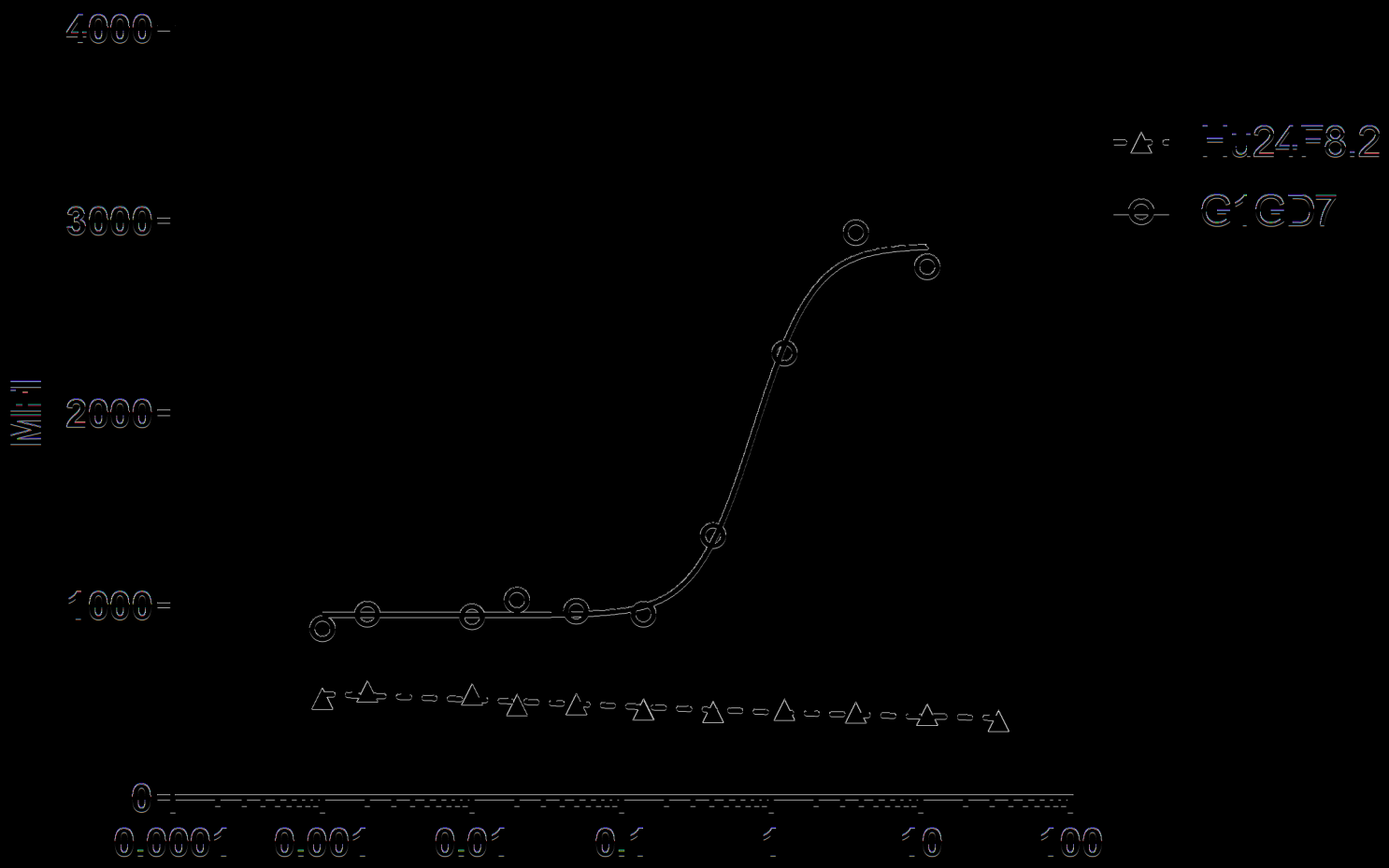
【圖2】


80000
60000
40000
20000
0
MFI
0.001
0.01
0.1
1
10
100
α-TGF抗體濃度(nM)
Hu24E8.1
Hu24E8.2

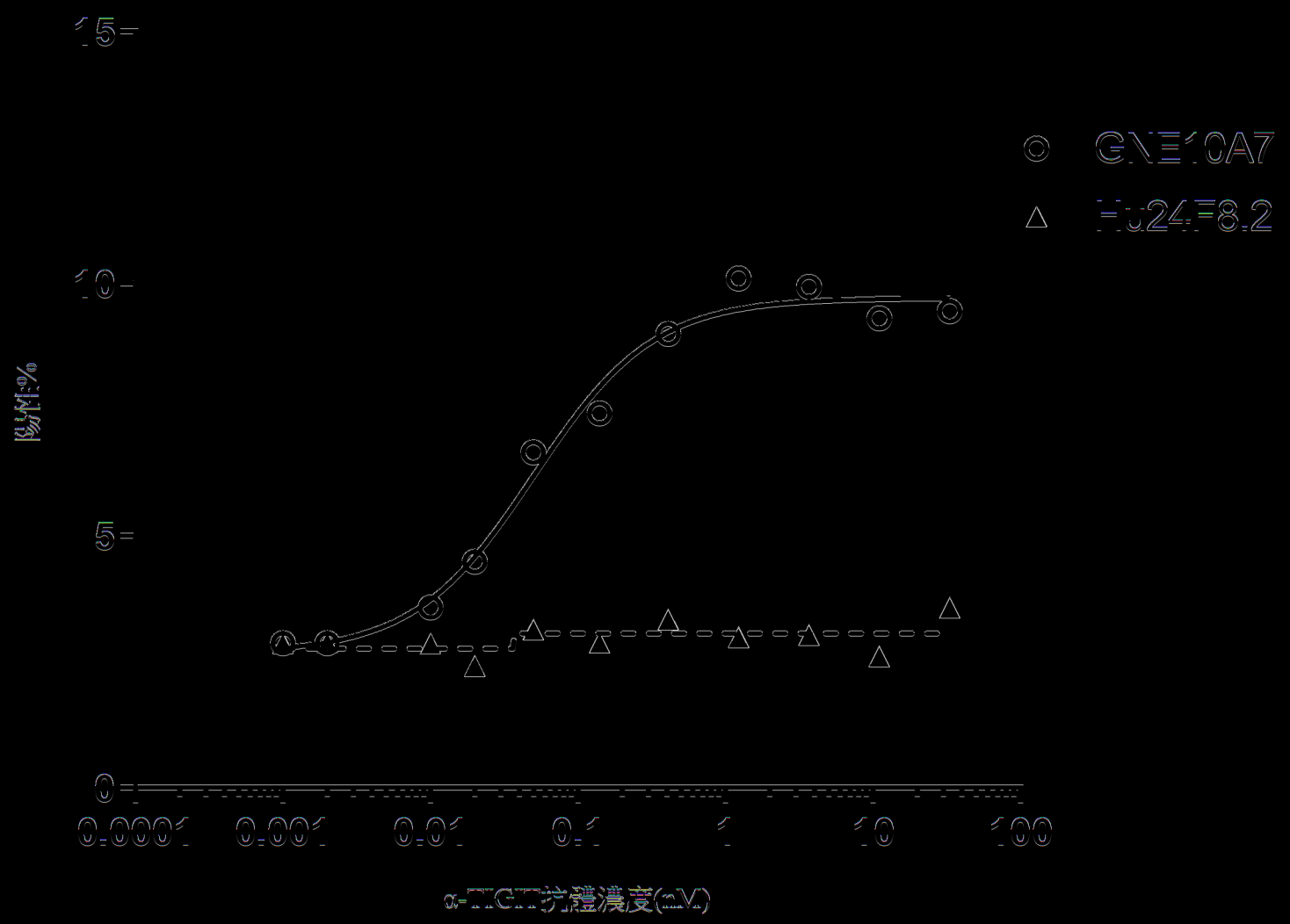
【圖3A】


30000
25000
20000
15000
10000
5000
MFI
0.001
0.01
0.1
1
10
100
α-TIGIT抗體濃度(nM)
HU24E8.1
HU24E8.2

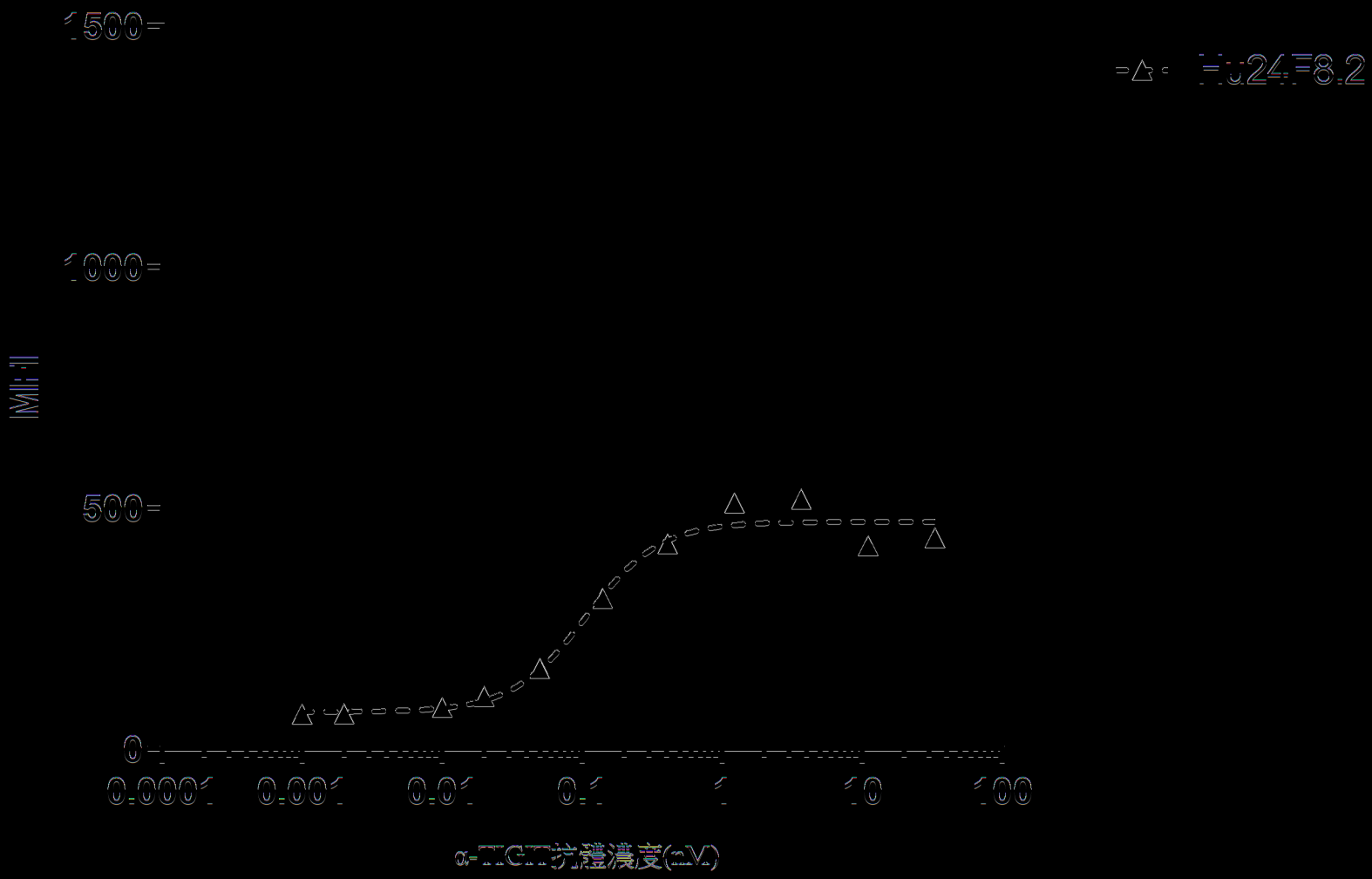
【圖3B】


4000
3000
2000
1000
0
MFI
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
α-TIGIT抗體濃度(nM)
Fc24F8.2
G1G7

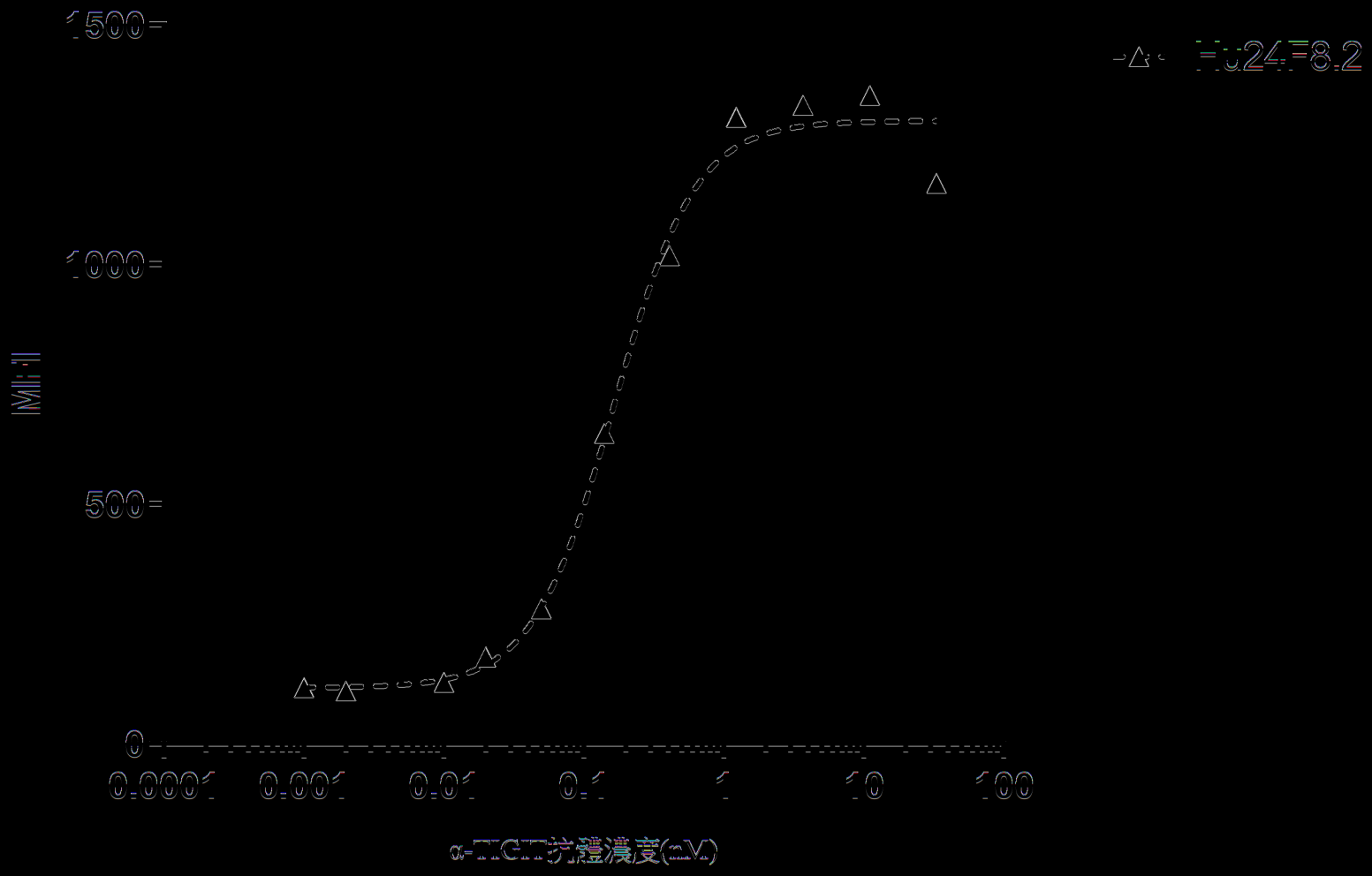
〔圖4A〕


GNE10A7
Hu24F8.2
%抑制
15
10
5
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
α-TGFβ抗體濃度(nM)

【圖4B】



【圖5A】


1500
1000
500
0
IL-8
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
α-TNFR抗體濃度(nM)
EC50=8.2

【圖5B】

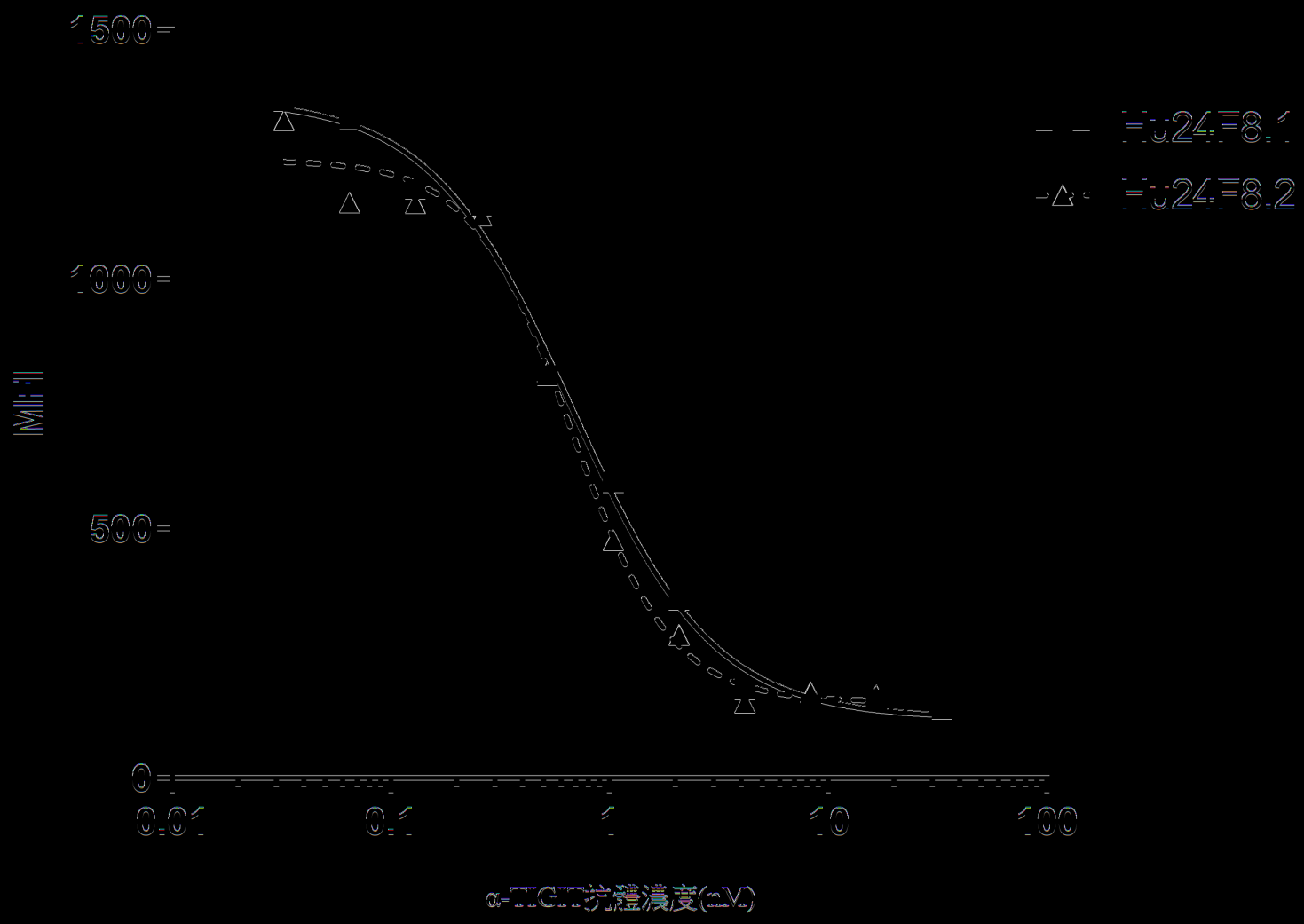
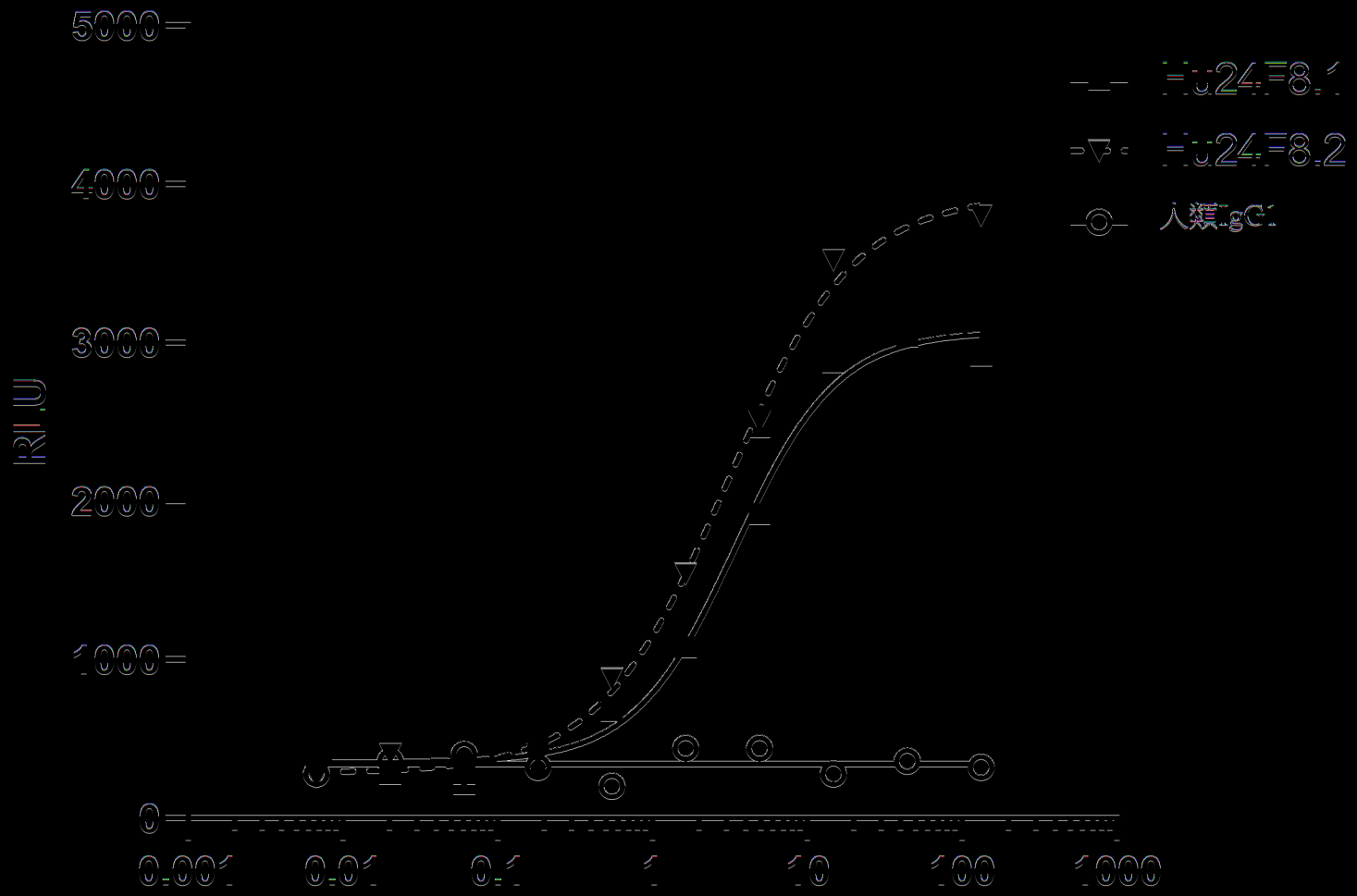

1500
1000
500
0
NMH
0.01
0.1
1
10
100
α-TIGIT抗體濃度(nM)
HU24H8.1
HU24H8.2

圖6


5000
4000
3000
2000
1000
0
RLU
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
α-TGF标准浓度(mM)
HU24-81
HU24-82
人类IgG1

【图7】

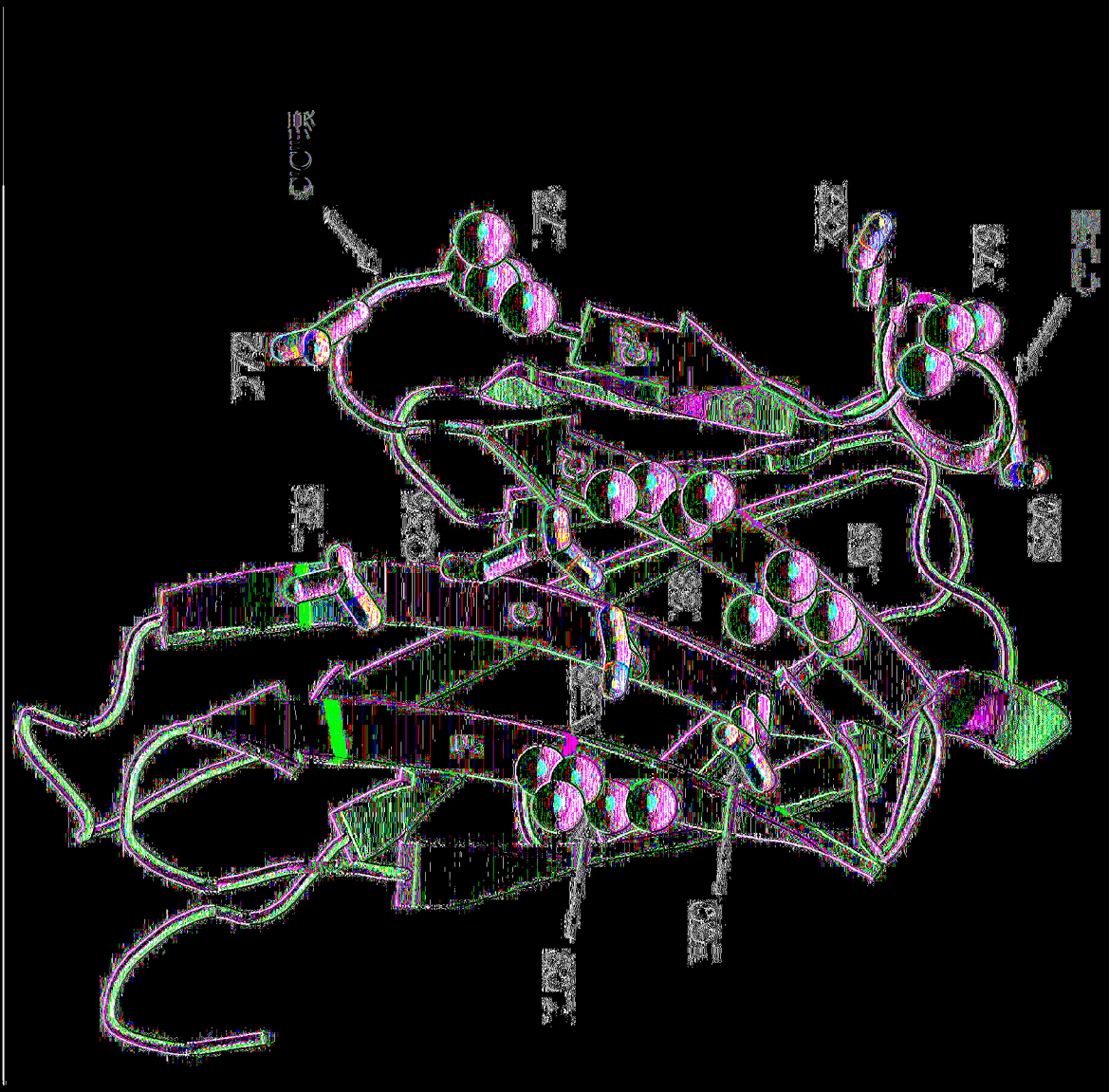


FIG1
FEC
NFC
10K
CCU
NFC
PCB
PCB
PCB
PCB

[Vol.41]
[Vol.41]

雙藍公證#566
0.0000
0.0008
0.0016
0.0024
0.0032
0.0040
μg/m³
0
200
400
600
800
1000
μg/m³ (pg/ml)
logG1
logA4 ± logG1
AB122 ± logG1
AB122 ± ln(24h)/8.2
logG1
ln(24h)/8.2
logG1
ln(24h)/8.2
logG1
ln(24h)/8.2

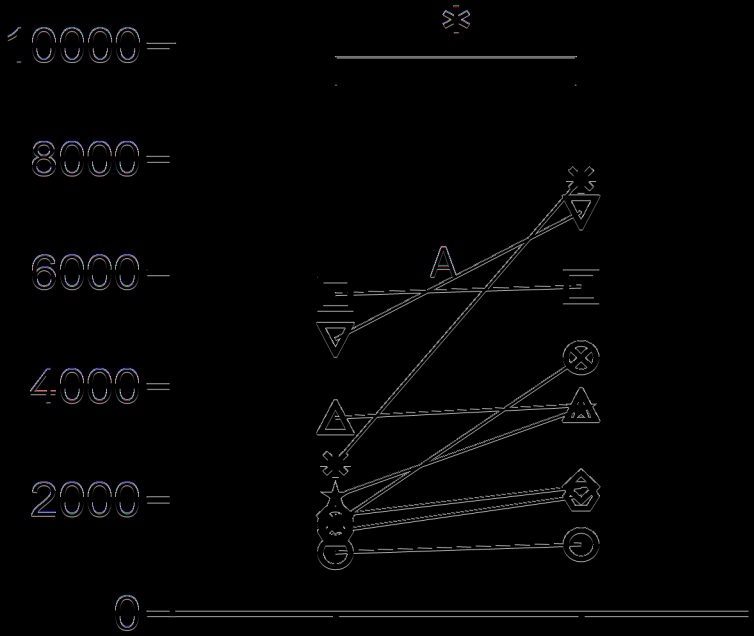
圖 1.1.2

無線網路
32
6000
4000
2000
0
Ⅲ ：2 (pg/ml)
6℃ ：24.82

數位K振動
32
10000
8000
6000
4000
2000
0
Ⅲ ：2 (pg/ml)
6℃ ：24.82

圖 2A

健康保證



（圖23）