



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I781934 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：106117694

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 05 月 26 日

(51)Int. Cl. : C07K16/24 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2016/05/27 美國

62/342,610

2016/11/10 美國

62/420,276

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

美國

(72)發明人：德克 馬克 VAN DIJK, MARC (NL)；布瑞歐尼斯 艾卡特莉娜 BREOUS-

NYSTROM, EKATERINA V. (NZ)；威爾森 尼可拉斯 WILSON, NICHOLAS S.

(NZ)；偉特 傑若米 WAIGHT, JEREMY (US)；安德伍 丹尼斯 UNDERWOOD,

DENNIS J. (AU)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

US 20150218274A1

WO 2016068803A1

WO 2016071448A1

審查人員：施雅儀

申請專利範圍項數：15 項 圖式數：15 共 318 頁

(54)名稱

抗-TIM-3 抗體及其使用方法

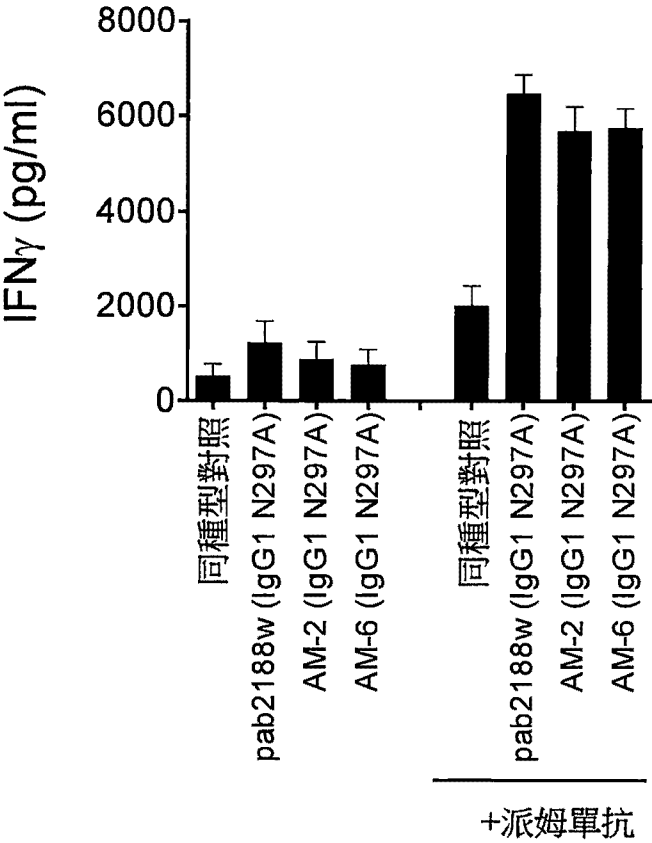
(57)摘要

本揭示案提供特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且拮抗 TIM-3 功能之抗體。亦提供包含此等抗體之醫藥組合物、編碼此等抗體之核酸、製造此等抗體之表現載體及宿主細胞，以及使用此等抗體來治療受試者之方法。

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

指定代表圖：

圖 12B



I781934

發明摘要

※申請案號：106117694

※申請日：106 年 05 月 26 日

【發明名稱】(中文/英文)

抗-TIM-3 抗體及其使用方法

Anti-TIM-3 antibodies and methods of use thereof

C07K 16/24 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

※IPC 分類：A61K 39/395 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

【中文】

本揭示案提供特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且拮抗 TIM-3 功能之抗體。亦提供包含此等抗體之醫藥組合物、編碼此等抗體之核酸、製造此等抗體之表現載體及宿主細胞，以及使用此等抗體來治療受試者之方法。

【英文】

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

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(12B)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

抗-TIM-3 抗體及其使用方法

Anti-TIM-3 antibodies and methods of use thereof

【技術領域】

[0001] 本揭示案係關於特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之抗體及其使用方法。

【先前技術】

[0002] 蛋白質 T 細胞免疫球蛋白及黏蛋白域-3(TIM-3)為免疫球蛋白(Ig)超家族中之 I 型膜蛋白。它具有細胞外 Ig 可變樣(IgV)域、細胞外黏蛋白樣域、及具有六個保守酪胺酸殘基之細胞質域(Monney 等人(2002) Nature 415:536-41)。TIM-3 在活化的 T-輔助 1 型(Th1)及 CD8⁺ T(Tc1)淋巴細胞、一些巨噬細胞(Monney 等人(2002) Nature 415:536-41)、活化的自然殺傷(NK)細胞(Ndhlovu 等人(2012) Blood 119(16):3734-43)及產生 IL-17 之 Th17 細胞(Nakae 等人(2007) J Leukoc Biol 81: 1258-68)中表現。

[0003] 研究證明 TIM-3 可用來抑制 T 細胞、骨髓細胞及 NK 細胞介導之反應並且促進免疫耐受性。舉例而言，與結合至並中和 TIM-3 配位體之免疫球蛋白域融合的

TIM-3 IgV 肽造成免疫接種小鼠中 Th1 細胞之過度增殖及 Th1 細胞因子釋放 (Sabatos 等人 (2003) Nat Immunol 4:1102-10)。事實上，活體內投與抗-TIM-3 抗體提高實驗自體免疫性腦脊髓炎(亦即，多發性硬化之動物模型)的病理嚴重性(Monney 等人(2002) Nature 415:536-41)。此外，TIM-3 表現在癌症患者之 CD8⁺ T 細胞中上調。舉例而言，在患有晚期黑素瘤之患者中大約 30%的 NY-ESO-1-特異性 CD8⁺ T 細胞顯示 TIM-3 表現之上調(Fourcade 等人 (2010) J Exp Med 207:2175-86)。

[0004] 鑒於人類 TIM-3 在調節免疫反應中之明顯作用，經設計來拮抗 TIM-3 傳訊之治療劑在治療涉及 TIM-3-介導的免疫抑制之疾病上有極大前景。

【發明內容】

[0005] 本揭示案提供抗體，該等抗體特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且拮抗 TIM-3 功能，例如，TIM-3-介導的免疫抑制。亦提供包含此等抗體之醫藥組合物、編碼此等抗體之核酸、製造此等抗體之表現載體及宿主細胞、以及使用此等抗體治療受試者之方法。本文所揭示之抗體尤其適用於增強響應於抗原(例如，腫瘤抗原或感染性疾病抗原)的 T 細胞活化及/或減弱 Treg-介導的免疫抑制，且因此用於治療受試者之癌症或者治療或預防受試者之感染性疾病。

[0006] 因此，在一態樣中，本揭示案提供一種抗體

或分離抗體，該抗體或分離抗體包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中：

(a) CDRH1 包含 $X_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 48) 之胺基酸序列，其中

X_1 為 R、S、A、G、K、M 或 T，

X_2 為 Q、S、A、G、R 或 T，

X_3 為 N、Y、G 或 Q，

X_4 為 A 或 Q，且

X_5 為 W、M、A、S 或 T；

(b) CDRH2 包含 WVSAISGSGGSTY (SEQ ID NO: 2) 之胺基酸序列；

(c) CDRH3 包含 AKGGDYGGNYFD (SEQ ID NO: 3) 之胺基酸序列；

(d) CDRL1 包含 $X_1ASQSVX_2SSYLA$ (SEQ ID NO: 52) 之胺基酸序列，其中

X_1 為 R 或 G，且

X_2 不存在或為 S；

(e) CDRL2 包含 X_1ASX_2RAT (SEQ ID NO: 53) 之胺基酸序列，其中

X_1 為 D 或 G，且

X_2 為 N、S 或 T；並且

(f) CDRL3 包含 $QQYGSSPX_1T$ (SEQ ID NO: 54) 之胺基酸序列，其中 X_1 為 L 或 I。

[0007] 在另一態樣中，本揭示案提供特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中：

(a) CDRH1 包含 $X_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 48) 之胺基酸序列，其中

X_1 為 R、S、A、G、K、M 或 T，

X_2 為 Q、S、A、G、R 或 T，

X_3 為 N、Y、G 或 Q，

X_4 為 A 或 Q，且

X_5 為 W、M、A、S 或 T；

(b) CDRH2 包含 WVSAISGSGGSTY (SEQ ID NO: 2) 之胺基酸序列；

(c) CDRH3 包含 AKGGDYGGNYFD (SEQ ID NO: 3) 之胺基酸序列；

(d) CDRL1 包含 $X_1ASQSVX_2SSYLA$ (SEQ ID NO: 52) 之胺基酸序列，其中

X_1 為 R 或 G，且

X_2 不存在或為 S；

(e) CDRL2 包含 X_1ASX_2RAT (SEQ ID NO: 53) 之胺基酸序列，其中

X_1 為 D 或 G，且

X_2 為 N、S 或 T；並且

(f) CDRL3 包含 QQYGSSPX₁T (SEQ ID NO: 54)之胺基酸序列，其中 X₁ 為 L 或 I。

[0008] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體或分離抗體包括具有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區以及具有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中該抗體在結合至表現人類 TIM-3 之細胞後內化，並且其中 CDRH3 包含 AKGGDYGGNYFD(SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列。

[0009] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含具有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區以及具有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中該抗體在結合至表現人類 TIM-3 之細胞後內化，並且其中 CDRH3 包含 AKGGDYGGNYFD(SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列。

[0010] 在某些實施例中：

(a) CDRH1 包含 X₁X₂X₃X₄X₅S (SEQ ID NO: 48)之胺基酸序列，其中

X₁ 為 R、S、A、G、K、M 或 T，

X₂ 為 Q、S、A、G、R 或 T，

X₃ 為 N、Y、G 或 Q，

X₄ 為 A 或 Q，且

X₅ 為 W、M、A、S 或 T；

(b) CDRH2 包含 WVSAISGSGGSTY (SEQ ID NO: 2) 之胺基酸序列；

(c) CDRL1 包含 X_1 ASQSV X_2 SSYLA (SEQ ID NO: 52) 之胺基酸序列，其中

X_1 為 R 或 G，且

X_2 不存在或為 S；

(d) CDRL2 包含 X_1 AS X_2 RAT (SEQ ID NO: 53) 之胺基酸序列，其中

X_1 為 D 或 G，且

X_2 為 N、S 或 T；並且

(e) CDRL3 包含 QQYGSSPX $_1$ T (SEQ ID NO: 54) 之胺基酸序列，其中 X_1 為 L 或 I。

[0011] 在某些實施例中，CDRH1 包含 X_1X_2 NAWS (SEQ ID NO: 49) 之胺基酸序列，其中： X_1 為 R 或 A；且 X_2 為 Q 或 R。在某些實施例中，CDRH1 包含 $X_1X_2GQX_3S$ (SEQ ID NO: 50) 之胺基酸序列，其中： X_1 為 K、M 或 G； X_2 為 A 或 S；且 X_3 為 S 或 T。在某些實施例中，CDRH1 包含 X_1X_2QQAS (SEQ ID NO: 51) 之胺基酸序列，其中： X_1 為 S、R、T 或 G；且 X_2 為 A、S、T 或 G。在某些實施例中，CDRH1 包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1 及 4-12。

[0012] 在某些實施例中，CDRL1 包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 13-16。在某些實施例中，CDRL2 包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ

ID NO: 17-21。在某些實施例中，CDRL3 包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 22 及 23。

[0013] 在某些實施例中，CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 包含分別在以下各項中闡明之 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、2 及 3；4、2 及 3；5、2 及 3；6、2 及 3；7、2 及 3；8、2 及 3；9、2 及 3；10、2 及 3；11、2 及 3；或 12、2 及 3。

[0014] 在某些實施例中，CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 胺基酸序列：SEQ ID NO: 13、17 及 22；14、17 及 22；15、18 及 22；14、19 及 22；14、20 及 22；14、21 及 22；16、20 及 22；或 14、17 及 23。

[0015] 在某些實施例中，CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、2、3、14、21 及 22；4、2、3、14、21 及 22；5、2、3、14、21 及 22；6、2、3、14、21 及 22；7、2、3、14、21 及 22；8、2、3、14、21 及 22；9、2、3、14、21 及 22；10、2、3、14、21 及 22；11、2、3、14、21 及 22；或 12、2、3、14、21 及 22。

[0016] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區，以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中 CDRH1、

CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、2、3、14、21 及 22。

[0017] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區，以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、2、3、14、21 及 22。

[0018] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區，以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 5、2、3、14、21 及 22。

[0019] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區，以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 5、2、3、14、21 及 22。

[0020] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區，以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 9、2、3、14、21 及 22。

[0021] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區，以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 9、2、3、14、21 及 22。

[0022] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區，以及含有互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、2、3、15、18 及 22。

[0023] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其包含含有互補決定區 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 之重鏈可變區，以及含有

互補決定區 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、2、3、15、18 及 22。

[0024] 在某些實施例中，抗體在結合至表現人類 TIM-3 之細胞後內化。

[0025] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其中該抗體在結合至表現人類 TIM-3 之細胞後內化。

[0026] 在某些實施例中，在檢定中，與存在 pab1944w(IgG₁ N297A)之情況相比，在該抗體存在下，較低百分比的表現人類 TIM-3 之細胞存活，該檢定包括以下步驟：(a)將表現人類 TIM-3 之細胞以 2×10^4 個細胞/孔塗佈在組織培養板中；(b)以 100 μ l/孔之最終體積添加 1111 ng/ml 之 α HFc-NC-DM1 及 1111 ng/ml 之抗體或 pab1944w (IgG₁ N297A)；(c)在 37°C 及 5%CO₂ 下培育 72 小時；(d)量測表現人類 TIM-3 之細胞之存活；以及(e)相對於表現人類 TIM-3 之未治療細胞，計算細胞存活百分比。在某些實施例中，與在 pab1944w(IgG₁ N297A)存在下的細胞存活百分比相比，在該抗體存在下的細胞存活百分比低至少 50%。在某些實施例中，表現人類 TIM-3 之細胞為 Kasumi-3 細胞。在某些實施例中，表現人類 TIM-3 之細胞為 Kasumi-3 細胞(ATCC® CRL-2725™)。在某些實施例中，表現人類 TIM-3 之細胞為經工程化以表現人類 TIM-3

之 Jurkat 細胞。

[0027] 在某些實施例中，在檢定中，與存在 Hum11(IgG₄ S228P)之情況相比，在該抗體之存在下，較低百分比之表現人類 TIM-3 之細胞存活，該檢定包括以下步驟：(a)將表現人類 TIM-3 之細胞以 2×10^4 個細胞/孔塗佈在組織培養板中；(b)以 100 μ l/孔之最終體積添加 1111 ng/ml 之 α HFc-NC-DM1 及 1111 ng/ml 之抗體或 Hum11(IgG₄ S228P)；(c)在 37°C 及 5%CO₂ 下培育 72 小時；(d)量測表現人類 TIM-3 之細胞之存活；以及(e)相對於表現人類 TIM-3 之未治療細胞，計算細胞存活百分比。在某些實施例中，與在 Hum11(IgG₄ S228P)存在下的細胞存活百分比相比，在該抗體存在下的細胞存活百分比低至少 50%。在某些實施例中，表現人類 TIM-3 之細胞為 Kasumi-3 細胞。在某些實施例中，表現人類 TIM-3 之細胞為 Kasumi-3 細胞(ATCC® CRL-2725™)。在某些實施例中，表現人類 TIM-3 之細胞為經工程化以表現人類 TIM-3 之 Jurkat 細胞。

[0028] 在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含含有胺基酸序列之重鏈可變區，該胺基酸序列與選自由 SEQ ID NO: 24-35 組成之群的胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%或 100%相同。在某些實施例中，重鏈可變區包含選自由 SEQ ID NO: 24-35 組成之群的胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID

NO: 25 之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列。在某些實施例中，如本文描述之抗體之重鏈可變區的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0029] 在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含含有胺基酸序列之輕鏈可變區，該胺基酸序列與選自由 SEQ ID NO: 36-47 組成之群的胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%或 100%相同。在某些實施例中，輕鏈可變區包含選自由 SEQ ID NO: 36-47 組成之群的胺基酸序列。在某些實施例中，輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列。在某些實施例中，如本文描述之抗體之輕鏈可變區的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0030] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有選自由 SEQ ID NO: 24-35 組成之群的胺基酸序列之重鏈可變區。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包

含含有 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 70、71、72、73、74 或 75 之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，如本文描述之抗體之重鏈的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0031] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含含有選自由 SEQ ID NO: 24-35 組成之群的胺基酸序列之重鏈可變區。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列。在某些實施例中，重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 70、71、72、73、74 或 75 之胺基酸序列的重鏈。

[0032] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有選自由 SEQ ID NO: 36-47 組成之群的胺基酸序列之輕鏈可變區。在某些實施例中，輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 76 或 77 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，如本文描述之抗體之輕

鏈的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0033] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含含有選自由 SEQ ID NO: 36-47 組成之群的胺基酸序列之輕鏈可變區。在某些實施例中，輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 76 或 77 之胺基酸序列的輕鏈。

[0034] 在另一態樣中，本揭示案提供一種包含重鏈可變區及輕鏈可變區之抗體或分離抗體，其中重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 24 及 36；24 及 38；26 及 42；24 及 42；24 及 46；24 及 43；26 及 43；26 及 46；26 及 41；24 及 41；25 及 39；24 及 47；25 及 40；26 及 47；25 及 37；25 及 45；25 及 44；25 及 46；25 及 42；25 及 41；25 及 43；25 及 47；27 及 46；28 及 46；29 及 46；30 及 46；31 及 46；32 及 46；33 及 46；34 及 46；或 35 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 25 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 28 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 32 及 46。在某些實施例中，如本文描述之抗體之重鏈可變區的 N 末端麩胺酸(E)

殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基且/或抗體之輕鏈可變區的N末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0035] 在另一態樣中，本揭示案提供一種包含重鏈可變區及輕鏈可變區之抗體或分離抗體，其中重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由在以下各項中闡明之胺基酸序列組成：SEQ ID NO: 24 及 36；24 及 38；26 及 42；24 及 42；24 及 46；24 及 43；26 及 43；26 及 46；26 及 41；24 及 41；25 及 39；24 及 47；25 及 40；26 及 47；25 及 37；25 及 45；25 及 44；25 及 46；25 及 42；25 及 41；25 及 43；25 及 47；27 及 46；28 及 46；29 及 46；30 及 46；31 及 46；32 及 46；33 及 46；34 及 46；或 35 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由在以下各項中闡明之胺基酸序列組成：SEQ ID NO: 25 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由在以下各項中闡明之胺基酸序列組成：SEQ ID NO: 28 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由在以下各項中闡明之胺基酸序列組成：SEQ ID NO: 32 及 46。

[0036] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 24 及 36；24 及 38；26 及 42；24 及 42；24 及 46；24 及 43；26 及 43；26 及 46；26 及 41；24 及 41；25 及 39；24 及 47；

25 及 40；26 及 47；25 及 37；25 及 45；25 及 44；25 及 46；25 及 42；25 及 41；25 及 43；25 及 47；27 及 46；28 及 46；29 及 46；30 及 46；31 及 46；32 及 46；33 及 46；34 及 46；或 35 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 25 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 28 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區分別包含在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 32 及 46。

[0037] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由在以下各項中闡明之胺基酸序列組成：SEQ ID NO: 24 及 36；24 及 38；26 及 42；24 及 42；24 及 46；24 及 43；26 及 43；26 及 46；26 及 41；24 及 41；25 及 39；24 及 47；25 及 40；26 及 47；25 及 37；25 及 45；25 及 44；25 及 46；25 及 42；25 及 41；25 及 43；25 及 47；27 及 46；28 及 46；29 及 46；30 及 46；31 及 46；32 及 46；33 及 46；34 及 46；或 35 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由在以下各項中闡明之胺基酸序列組成：SEQ ID NO: 25 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由在以下各項中闡明之胺基酸序列組成：SEQ ID NO:

28 及 46。在某些實施例中，重鏈可變區及輕鏈可變區之胺基酸序列分別由在以下各項中闡明之胺基酸序列組成：SEQ ID NO: 32 及 46。

[0038] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。

[0039] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。

[0040] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。

[0041] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。

[0042] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，其包含含有 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。

[0043] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。

[0044] 在某些實施例中，如本文描述之抗體之重鏈的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基且/或該抗體之輕鏈的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0045] 在某些實施例中，抗體包含重鏈可變區，該重鏈可變區具有衍生自人類 IGHV3-23 生殖系序列之胺基酸序列。在某些實施例中，抗體包含輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有衍生自選自由以下組成之群之人類生殖系序列的胺基酸序列：IGKV1-27、IGKV3-11、IGKV3-20 及 IGKV3D-20。

[0046] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，該抗體包含具有衍生自人類 IGHV3-23 生殖系序列之胺基酸序列的重鏈可變區，及具有衍生自選自由以下組成之群之人類生殖系序列之胺基酸序列的輕鏈可變區：IGKV1-27、IGKV3-11、IGKV3-20 及 IGKV3D-20。

[0047] 在某些實施例中，該抗體包含選自由以下組成之群之重鏈恆定區：人類 IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁ 及 IgA₂。在某些實施例中，重鏈恆定區為 IgG₁。在某些實施例中，IgG₁ 之胺基酸序列包含 N297A 突變，該突變係根據 EU 編號系統來編號。在某些實施例中，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列的重鏈恆定區。在某些實施例中，IgG₁ 之胺基酸序列包含 N297Q 突變，該突變係根據 EU 編號系統來編號。在某些實施例中，

IgG₁ 為非岩藻糖化 IgG₁。在某些實施例中，重鏈恆定區為 IgG₄。在某些實施例中，IgG₄ 之胺基酸序列包含 S228P 突變，該突變係根據 EU 編號系統來編號。在某些實施例中，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列的重鏈恆定區。

[0048] 在某些實施例中，抗體包含選自由以下組成之群的輕鏈恆定區：人類 IgG κ 及 IgG λ 。在某些實施例中，輕鏈恆定區為 IgG κ 。在某些實施例中，抗體包含含有 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列的輕鏈恆定區。在某些實施例中，輕鏈恆定區為 IgG λ 。

[0049] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本文揭示之抗體交叉競爭結合至人類 TIM-3 的抗體或分離抗體。在某些實施例中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體與包含分別在 SEQ ID NO: 55 及 56 中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體交叉競爭結合至人類 TIM-3。在某些實施例中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體與包含分別在 SEQ ID NO: 25 及 46 中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體交叉競爭結合至人類 TIM-3。在某些實施例中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體與包含分別在 SEQ ID NO: 28 及 46 中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體交叉競爭結合至人類 TIM-3。在某些實施例中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體與包含分別在 SEQ ID NO: 32 及 46 中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體交叉競爭結合至

人類 TIM-3。

[0050] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本文揭示之抗體結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體。在某些實施例中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體與包含分別在 SEQ ID NO: 55 及 56 中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體結合至人類 TIM-3 之相同表位。在某些實施例中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體與包含分別在 SEQ ID NO: 25 及 46 中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體結合至人類 TIM-3 之相同表位。在某些實施例中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體與包含分別在 SEQ ID NO: 28 及 46 中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體結合至人類 TIM-3 之相同表位。在某些實施例中，本揭示案提供一種抗體或分離抗體，該抗體與包含分別在 SEQ ID NO: 32 及 46 中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列之抗體結合至人類 TIM-3 之相同表位。

[0051] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其中與具有 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之野生型 TIM-3 蛋白相比，該抗體以較低親和力特異性結合至具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之變異 TIM-3 蛋白。

[0052] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本發明之任何抗體特異性結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體。在一實施例中，與具有 SEQ ID NO: 79 之胺基

酸序列之野生型 TIM-3 蛋白相比，該抗體以較低親和力特異性結合至具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之變異 TIM-3 蛋白。

[0053] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其中抗體不特異性結合至具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列的變異 TIM-3 蛋白。

[0054] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本發明之任何抗體特異性結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體。在一實施例中，抗體不特異性結合至具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列的變異 TIM-3 蛋白。

[0055] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其中相對於抗體與具有 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之野生型 TIM-3 蛋白之間的結合，抗體與具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之變異 TIM-3 蛋白之間的結合大體上減弱。

[0056] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本發明之任何抗體特異性結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體。在一實施例中，相對於抗體與具有 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之野生型 TIM-3 蛋白之間的結合，抗體與具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之變異 TIM-3 蛋白之間的結合大體上減弱。

[0057] 在另一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至人類 TIM-3 之抗體或分離抗體，其中如與結合至具有

SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之野生型 TIM-3 蛋白相比，抗體展現與具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之變異 TIM-3 蛋白的減少結合或不存在結合。

[0058] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本發明之任何抗體特異性結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體。在一實施例中，如與結合至具有 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之野生型 TIM-3 蛋白相比，抗體展現與具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列之變異 TIM-3 蛋白的減少結合或不存在結合。

[0059] 在另一態樣中，本揭示案提供一種結合，例如，特異性結合至人類 TIM-3 之表位的抗體或分離抗體。在某些實施例中，抗體結合至 SEQ ID NO: 79 之殘基 40。

[0060] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本發明之任何抗體特異性結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體。在某些實施例中，抗體結合至 SEQ ID NO: 79 之殘基 40。

[0061] 在另一態樣中，本揭示案提供一種結合，例如，特異性結合至人類 TIM-3 之表位的抗體或分離抗體。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 95 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位

於由 SEQ ID NO: 96 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 97 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 100 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。

[0062] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本發明之任何抗體特異性結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 95 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 96 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 97 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。在某些

實施例中，抗體結合至位於由 SEQ ID NO: 100 之胺基酸序列組成的人類 TIM-3 之區域內的表位。

[0063] 在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 93 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 93 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 94 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 94 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 95 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 95 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 96 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 96 中闡明之胺基酸序列

組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 97 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 97 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在另一態樣中，本揭示案提供一種抗體，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 98 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時可減少由在 SEQ ID NO: 98 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在一些實施例中，使用例如在本文實例中所述的氫-氘交換(HDX)來量測氫/氘交換之減少。

[0064] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本發明之任何抗體特異性結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體。在某些實施例中，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 93 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 93 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在某些實施例中，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 94 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ

ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 94 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在某些實施例中，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 95 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 95 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在某些實施例中，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 96 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 96 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在某些實施例中，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 97 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 97 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在某些實施例中，與不存在該抗體的情況下由在 SEQ ID NO: 98 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換相比，該抗體在結合至包含 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列之人類 TIM-3 蛋白或其片段時減少由在 SEQ ID NO: 98 中闡明之胺基酸序列組成之區域中的氫/氘交換，如藉由氫/氘檢定來判定。在一些

實施例中，使用例如在本文實例中所述的氫-氘交換(HDX)來量測氫/氘交換之減少。

[0065] 在另一態樣中，本揭示案提供一種與本發明之任何抗體結合，例如，特異性結合至人類 TIM-3 之相同表位的抗體或分離抗體，其中表位藉由例如在實例中所述的氫-氘交換(HDX)、藉由例如在實例中所述的 Pepscan 分析或藉由例如在實例中所述的丙胺酸掃描來判定。

[0066] 在某些實施例中，抗體包含作為野生型人類 IgG 重鏈恆定區之變異體的人類 IgG 重鏈恆定區，其中與野生型人類 IgG 重鏈恆定區結合至人類 Fc γ 受體相比，變異的人類 IgG 重鏈恆定區以較低親和力結合至人類 Fc γ 受體。在某些實施例中，人類 Fc γ 受體選自由以下組成之群：Fc γ RI、Fc γ RII 及 Fc γ RIII。在某些實施例中，變異的人類 IgG 重鏈恆定區為包含 N297A 突變之 IgG₁ 恆定區。

[0067] 在某些實施例中，抗體為人類抗體。在某些實施例中，抗體拮抗人類 TIM-3。在某些實施例中，抗體去活化、降低或抑制人類 TIM-3 之活性。在某些實施例中，抗體抑制人類 TIM-3 結合至磷脂醯絲胺酸。在某些實施例中，抗體誘導經葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之末梢血單核細胞(PBMC)之 IFN γ 產生。在某些實施例中，抗體誘導經抗 CD3 及抗 CD28 抗體刺激之腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)之 IFN γ 或 TNF α 產生。

[0068] 在某些實施例中，抗體在結合至表現人類 TIM-3 之細胞後內化。

[0069] 在另一態樣中，本揭示案提供一種接合至細胞毒性劑的本文揭示之抗體或分離抗體。

[0070] 在另一態樣中，本揭示案提供一種接合至細胞生長抑制劑的本文揭示之抗體或分離抗體。

[0071] 在另一態樣中，本揭示案提供一種接合至毒素的本文揭示之抗體或分離抗體。

[0072] 在另一態樣中，本揭示案提供一種接合至放射性核素的本文揭示之抗體或分離抗體。

[0073] 在另一態樣中，本揭示案提供一種接合至可偵測標記的本文揭示之抗體或分離抗體。

[0074] 在另一態樣中，本揭示案提供一種包含本文揭示之抗體及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑的醫藥組合物。

[0075] 在另一態樣中，本揭示案提供一種編碼本文揭示之抗體之重鏈及/或輕鏈的多核苷酸或分離的多核苷酸。在另一態樣中，本揭示案提供一種包含多核苷酸之載體。在另一態樣中，本揭示案提供一種包含多核苷酸之重組宿主細胞。在另一態樣中，本揭示案提供一種包含載體之重組宿主細胞。在另一態樣中，本揭示案提供一種產生本文揭示之抗體的方法，該方法包括培養宿主細胞以便表現多核苷酸並且產生抗體。在一實施例中，該方法為活體外方法。

[0076] 在一實施例中，本發明係關於本發明之抗體、或本發明之醫藥組合物、或本發明之多核苷酸、或本

發明之載體、或本發明之重組宿主細胞，其係用作藥劑。

[0077] 在一實施例中，本發明係關於本發明之抗體、或本發明之醫藥組合物、或本發明之多核苷酸、或本發明之載體、或本發明之重組宿主細胞，其係用作診斷劑。

[0078] 在另一態樣中，本揭示案提供一種增強受試者中響應於抗原之 T 細胞活化的方法，該方法包括向受試者投與有效量之如本文揭示之抗體或醫藥組合物。在另一態樣中，本揭示案提供一種治療受試者之癌症的方法，該方法包括向受試者投與有效量之如本文揭示之抗體或醫藥組合物。在前述方法之某些實施例中，皮下投與抗體或醫藥組合物。在前述方法之某些實施例中，靜脈內投與抗體或醫藥組合物。在前述方法之某些實施例中，瘤內投與抗體或醫藥組合物。在前述方法之某些實施例中，將抗體或醫藥組合物遞送至腫瘤引流淋巴結。在前述方法之某些實施例中，動脈內投與抗體或醫藥組合物。

[0079] 在一態樣中，本發明係關於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物，其係用於增強響應於抗原之 T 細胞活化的方法中。

[0080] 在一態樣中，本發明係關於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物，其係用於增強受試者中響應於抗原之 T 細胞活化的方法中。

[0081] 在一態樣中，本發明係關於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物，其係

用於增強受試者中響應於抗原之 T 細胞活化的方法中，該方法包括向受試者投與有效量之本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物。

[0082] 在一態樣中，本發明係關於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物，其係用於治療癌症之方法中。

[0083] 在一態樣中，本發明係關於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物，其係用於治療受試者之癌症的方法中。

[0084] 在一態樣中，本發明係關於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物，其係用於治療受試者之癌症的方法中，該方法包括向受試者投與有效量之本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物。

[0085] 在用於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物之一實施例中，皮下或靜脈內投與抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物。在用於本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物之另一實施例中，瘤內或動脈內投與抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物。

[0086] 在某些實施例中，前述方法進一步包括向受試者投與額外的治療劑。因此，在本發明之方法中使用的抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物

之一實施例中，該方法進一步包括向受試者投與額外的治療劑。

[0087] 在一態樣中，本發明係關於(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物以及(b)作為藥劑來使用之額外治療劑。

[0088] 在一態樣中，本發明係關於(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物以及(b)在治療癌症之方法中使用之額外治療劑。

[0089] 在一態樣中，本發明係關於醫藥組合物、套組或部件套組，其包含(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物以及(b)額外的治療劑。

[0090] 在某些實施例中，額外的治療劑為化學治療劑。在某些實施例中，額外的治療劑為放射治療劑。

[0091] 在某些實施例中，額外的治療劑為檢查點靶向劑。在某些實施例中，檢查點靶向劑選自由以下組成之群：拮抗劑抗-PD-1 抗體、拮抗劑抗-PD-L1 抗體、拮抗劑抗-PD-L2 抗體、拮抗劑抗-CTLA-4 抗體、拮抗劑抗-TIM-3 抗體、拮抗劑抗-LAG-3 抗體、拮抗劑抗-CEACAM1 抗體、促效劑抗-CD137 抗體、拮抗劑抗-TIGIT 抗體、拮抗劑抗-VISTA 抗體、促效劑抗-GITR 抗體及促效劑抗-OX40 抗體。在某些實施例中，額外的治療劑為抗-PD-1 抗體。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為派姆單抗。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為妮威祿單抗。

[0092] 在某些實施例中，額外的治療劑為吲哚胺-2,3-雙加氧酶(IDO)之抑制劑。在某些實施例中，抑制劑選自由以下組成之群：epacadostat、F001287、indoximod 及 NLG919。在某些實施例中，抑制劑為 epacadostat。在某些實施例中，抑制劑為 F001287。在某些實施例中，抑制劑為 indoximod。在某些實施例中，抑制劑為 NLG919。

[0093] 在某些實施例中，額外的治療劑為疫苗。在某些實施例中，疫苗包含熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)，該複合物包含與抗原肽複合之熱休克蛋白。在某些實施例中，熱休克蛋白為 hsc70 並且與腫瘤相關抗原肽複合。在某些實施例中，熱休克蛋白為 gp96 蛋白並且與腫瘤相關抗原肽複合，其中 HSPPC 係衍生自從受試者獲得之腫瘤。在某些實施例中，額外的治療劑包含 TCR。在某些實施例中，額外的治療劑為可溶性 TCR。在某些實施例中，額外的治療劑為表現 TCR 之細胞。在某些實施例中，額外的治療劑為表現嵌合抗原受體之細胞。在某些實施例中，額外的治療劑為特異性結合至肽-MHC 複合物之抗體。在某些實施例中，額外的治療劑為佐劑。在一態樣中，本發明係關於(a)本發明之抗體、多核苷酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物以及(b)作為藥劑來使用，例如，在治療癌症之方法中使用的疫苗，視情況其中該疫苗包含熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)，該複合物包含與抗原肽複合之熱休克蛋白。在一態樣中，本發明係關於醫藥組合物、套組或部件套組，其包含(a)本發明之抗體、多核苷

酸、載體、重組宿主細胞及/或醫藥組合物以及(b)疫苗，視情況其中該疫苗包含熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)，該複合物包含與抗原肽複合之熱休克蛋白。

【圖式簡單說明】

[0094] 圖 1 為展示抗-TIM-3 抗體 pab2085(IgG₁)及 pab2088(IgG₁)或同種型對照抗體與野生型鼠科 1624-5 細胞或經工程化以表現人類 TIM-3 之 1624-5 細胞之結合的一組直方圖，如藉由流式細胞術所量測。

[0095] 圖 2A 及 2B 為展示抗-TIM-3 抗體 pab2085(IgG₁)(圖 2A)及 pab2088(IgG₁)(圖 2B)與重組人類 TIM-1 His(rhTIM-1 His)、重組人類 TIM-4 His(rhTIM-4 His)、重組人類 TIM-3 His(rhTIM-3 His)、重組人類 TIM-3 Fc(rhTIM-3 Fc)及重組食蟹獼猴 TIM-3 Fc(rcmTIM-3 Fc)之結合的一對圖表，如藉由 Luminex 檢定所量測。中值螢光強度(MFI)值係相對於抗體濃度來作圖。

[0096] 圖 3A、3B、3C 及 3D 為展示抗-TIM-3 抗體或同種型對照抗體與經工程化以表現人類 TIM-3(圖 3A 及 3B)或食蟹獼猴 TIM-3(圖 3C 及 3D)之鼠科 1624-5 細胞之結合的一組直方圖，如藉由流式細胞術所量測。在此項研究中測試之抗-TIM-3 抗體包括 pab2173、pab2174、pab2175、pab2176、pab2177、pab2178、pab2179、pab2180、pab2181、pab2182、pab2183、pab2184、pab2185、pab2186、pab2187、pab2188、pab2189、

pab2190、pab2191 及 pab2192，該等抗體都含有 IgG₁ Fc 區。

[0097] 圖 4 為展示抗-TIM-3 抗體 pab2085、輕鏈優化之變異體 (pab2184、pab2186、pab2187、pab2188、pab2189、pab2190、pab2191 及 pab2192)或同種型對照抗體與經抗 CD3 及抗 CD28 抗體活化之初級人類 CD8⁺T 細胞之結合的圖表，如藉由流式細胞術所量測。輕鏈優化之變異體含有 IgG₁ 變異體 Fc 區。MFI 值係相對於所測試的一系列抗體濃度來作圖。

[0098] 圖 5 為展示抗-TIM-3 抗體 pab2188(IgG₁ 變異體)或同種型對照抗體與初級食蟹獼猴 CD11b⁺骨髓細胞之結合的圖表，如藉由流式細胞術所量測。MFI 值係相對於抗體濃度來作圖。

[0099] 圖 6A 及 6B 為展示在存在抗-TIM-3 抗體或 IgG₁ 同種型對照抗體之劑量滴定的情況下經照射之表現磷脂醯絲胺酸的 WR19L 鼠科淋巴瘤細胞與重組人類 TIM-3 Fc(圖 6A)或重組食蟹獼猴 TIM-3 Fc(圖 6B)之間的結合百分比的圖表。在此項研究中測試之抗-TIM-3 抗體為 pab2085(IgG₁)及 pab2188(IgG₁ 變異體)。

[0100] 圖 7 為展示在葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之後的人類末梢血單核細胞(PBMC)中由抗-TIM-3 抗體或 IgG₁ 同種型對照抗體以及抗-PD-1 抗體派姆單抗所誘導之 IFN γ 產生的條形圖。在此項研究中測試之抗-TIM-3 抗體包括輕鏈優化之變異體 pab2175(IgG₁)、pab2176(IgG₁)、

pab2180(IgG₁)、pab2182(IgG₁)、pab2183(IgG₁ 變異體)、pab2184(IgG₁ 變異體)、pab2186(IgG₁ 變異體)、pab2187(IgG₁ 變異體)、pab2188(IgG₁ 變異體)、pab2189(IgG₁ 變異體)、pab2190(IgG₁ 變異體)、pab2191(IgG₁ 變異體)及 pab2192(IgG₁ 變異體)。

[0101] 圖 8A、8B、8C、8D、8E 及 8F 為展示在 SEA 刺激之後來自六個不同供體之人類 PBMC 中由單獨或與抗-PD-1 抗體派姆單抗組合的抗-TIM-3 抗體 pab2188w(IgG₁ N297A)或 IgG₁N297A 同種型對照抗體所誘導之 IFN γ 產生的一組條形圖。在圖 8A-8F 描繪之研究中使用的實驗程序係由圖 7 描繪之研究中使用的實驗程序修改而來。

[0102] 圖 9A、9B、9C、9D、9E 及 9F 為展示抗-TIM-3 抗體結合至表現 TIM-3 之細胞的圖表或直方圖。在圖 9A、9B、9E 及 9F 中，MFI 值係相對於所測試的一系列抗體濃度來作圖。圖 9C 及 9D 為展示抗-TIM-3 抗體結合至表現 TIM-3 之細胞的一組直方圖。所測試的抗-TIM-3 抗體包括 pab2188w(IgG₁ N297A)、AM-1(IgG₁ N297A)、AM-2(IgG₁ N297A)、AM-3(IgG₁ N297A)、AM-4(IgG₁ N297A)、AM-5(IgG₁ N297A)、AM-6(IgG₁ N297A)、AM-7(IgG₁ N297A)、AM-8(IgG₁ N297A) 及 AM-9(IgG₁ N297A)。所測試的細胞為異位表現人類 TIM-3 之 Jurkat 細胞(圖 9A)、Kasumi-3(一種內源性表現 TIM-3 之人類急性骨髓性白血病細胞株)(圖 9B)、經葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之人類 CD8⁺T 細胞(圖 9C)、經 SEA 刺激之食

蟹獼猴 CD8+T 細胞(圖 9D)、以及初級人類(圖 9E)及食蟹獼猴(圖 9F)CD14+骨髓細胞。

[0103] 圖 10A、10B、10C 及 10D 為展示抗-TIM-3 抗體或 IgG₁ N297A 同種型對照抗體結合至重組人類 TIM-3 His(rhTIM-3 His)、重組食蟹獼猴 TIM-3 Fc(rcmTIM-3 Fc)、重組小鼠 TIM-3 Fc(rmTIM-3 Fc)、重組人類 TIM-1 His(rhTIM-1 His)、重組人類 TIM-4 His(rhTIM-4 His)、重組人類 OX40 His(rhOX40 His)、重組人類 GITR Fc(rhGITR Fc)、重組人類 DR3 Fc(rhDR3 Fc)及重組人類 CD137 Fc(rhCD137 Fc)之圖表，如藉由 Luminex 檢定所量測。MFI 值係相對於抗體濃度來作圖。在此項研究中測試之抗-TIM-3 抗體包括 pab2188w(IgG₁ N297A)(圖 10B)、AM-2(IgG₁ N297A)(圖 10C)及 AM-6(IgG₁ N297A)(圖 10D)。

[0104] 圖 11A 及 11B 為展示在存在抗-TIM-3 抗體或 IgG₁ N297A 同種型對照抗體之劑量滴定的情況下重組人類 TIM-3 Fc(圖 11A)或重組食蟹獼猴 TIM-3 Fc(圖 11B)與表現磷脂醯絲胺酸之 WR19L 細胞之間的結合百分比之圖表。在此項研究中測試之抗-TIM-3 抗體包括 pab2188w(IgG₁ N297A)、AM-2(IgG₁ N297A)及 AM-6(IgG₁ N297A)。

[0105] 圖 12A 及 12B 為展示在 SEA 刺激之後來自兩個不同供體之人類 PBMC 中由單獨或與抗-PD-1 抗體派姆單抗組合的抗-TIM-3 抗體或 IgG₁ N297A 同種型對照抗體所誘導之 IFN γ 產生的條形圖。所測試的抗-TIM-3 抗體包

括 pab2188w(IgG₁ N297A)、AM-1(IgG₁ N297A)、AM-2(IgG₁ N297A)、AM-3(IgG₁ N297A)、AM-4(IgG₁ N297A)、AM-5(IgG₁ N297A)、AM-6(IgG₁ N297A)、AM-7(IgG₁ N297A)及 AM-8(IgG₁ N297A)。

[0106] 圖 13A、13B、13C、13D、13E 及 13F 為展示由單獨或與抗-PD-1 抗體派姆單抗組合之抗-TIM-3 抗體或 IgG₁ N297A 同種型對照抗體所誘導的初級腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)之 IFN γ 或 TNF α 產生的圖表。TIL 係由非小細胞肺癌(NSCLC)(圖 13A 及 13B)、膽囊腺癌(圖 13C 及 13D)或乳腺癌(圖 13E 及 13F)腫瘤分離並且用抗 CD3/CD28 微珠活化。在此項研究中測試之抗-TIM-3 抗體包括 pab2188w(IgG₁ N297A)、AM-2(IgG₁ N297A)及 AM-6(IgG₁ N297A)。

[0107] 圖 14A、14B 及 14C 為展示相對於未治療的對照組，在與抗-TIM-3 抗體或 IgG₁ N297A 同種型對照抗體一起培育之後的細胞存活百分比之圖表。圖 14A 及 14B 展示使用所指示的抗體以及次級抗體藥物接合物 α HFc-NC-DM1 之治療。所測試的細胞為經工程化以過度表現 TIM-3 之 Jurkat 細胞(圖 14A)或 Kasumi-3 細胞，亦即一種內源性表現 TIM-3 之急性骨髓性白血病細胞株(圖 14B)。圖 14C 展示使用作為與單甲奧里斯他汀 E(MMAE)之接合物的所指示抗體之治療。在此項研究中測試之抗-TIM-3 抗體包括 pab2188w(IgG₁ N297A)、AM-2(IgG₁ N297A)、AM-6(IgG₁ N297A)及參考抗體 Hum11(IgG₄ S228P)及

pab1944w(IgG₁ N297A)。

[0108] 圖 15 為展示在與 10 $\mu\text{g/mL}$ 抗-TIM-3 抗體 AM-2 或同種型對照抗體一起培育時表現 HaloTag-TIM-3 融合蛋白之 Jurkat 細胞中的 TIM-3 內化之一系列圖表，如在各個時間點(即，在 0-3.5 小時)藉由活細胞共焦螢光顯微術來判定。黑點指示在給定時間點對於每個條件所觀察到的平均螢光水準。

【實施方式】

[0109] 本揭示案提供特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且拮抗 TIM-3 功能，例如，TIM-3 介導之免疫抑制的抗體。亦提供包含此等抗體之醫藥組合物、編碼此等抗體之核酸、用於製造此等抗體之表現載體及宿主細胞、以及使用此等抗體來治療受試者之方法。本文揭示之抗體尤其適用於增強響應於抗原(例如，腫瘤抗原或感染性疾病抗原)之 T 細胞活化，由此治療受試者之癌症或者治療或預防受試者之感染性疾病。本文所述之「分離抗體」之所有實例另外設想為可但不必分離之抗體。本文所述之「分離多核苷酸」之所有實例另外設想為可但不必分離之多核苷酸。本文所述之「抗體」之所有實例另外設想為可但不必分離之抗體。本文所述之「多核苷酸」之所有實例另外設想為可但不必分離之多核苷酸。

5.1 定義

[0110] 如本文使用，術語「約」及「近似」在用於修飾數值或數值範圍時指示高於該值或範圍 5%至 10%(例如，高達 5%至 10%)及低於該值或範圍 5%至 10%(例如，低達 5%至 10%)之偏差仍然在所列舉的值或範圍之期望含義內。

[0111] 如本文使用，術語「TIM-3」係指 T 細胞免疫球蛋白及黏蛋白域-3(亦稱為含有 T 細胞免疫球蛋白及黏蛋白域-3 之蛋白質或 A 型肝炎病毒細胞受體 2(HAVCR2))，其在人類中係由 HAVCR2 基因編碼。Swiss-Prot 登錄號 Q8TDQ0-1 提供示範性人類 TIM-3 胺基酸序列。人類 TIM-3 之未成熟胺基酸序列提供為 SEQ ID NO: 78。人類 TIM-3 之成熟胺基酸序列提供為 SEQ ID NO: 79。如本文使用，術語「人類 TIM-3」係指包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列之 TIM-3。

[0112] 如本文使用，術語「抗體(antibody)」及「抗體(antibodies)」包括全長抗體、全長抗體之抗原結合片段，以及包含抗體 CDR、VH 區或 VL 區之分子。抗體之實例包括單株抗體、重組產生抗體、單特異性抗體、多特異性抗體(包括雙特異性抗體)、人類抗體、人源化抗體、嵌合抗體、免疫球蛋白、合成抗體、包含兩個重鏈及兩個輕鏈分子之四聚抗體、抗體輕鏈單體、抗體重鏈單體、抗體輕鏈二聚體、抗體重鏈二聚體、抗體輕鏈-抗體重鏈對、內抗體、異源接合抗體、抗體-藥物接合物、單域抗體、單價抗體、單鏈抗體或單鏈 Fvs(scFv)、駱駝化抗

體、親合體、Fab 片段、F(ab')₂ 片段、二硫化物-連接的 Fvs(sdFv)、抗-獨特型(抗-Id)抗體(包括例如抗-抗-Id 抗體)，以及上述抗體中之任一者之抗原結合片段。在某些實施例中，本文描述之抗體係指多株抗體群。抗體可為任何類型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 或 IgY)，任何類別(例如，IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁ 或 IgA₂)，或任何子類(例如，IgG_{2a} 或 IgG_{2b})之免疫球蛋白分子。在某些實施例中，本文描述之抗體為 IgG 抗體，或其類別(例如，人類 IgG₁ 或 IgG₄)或子類。在具體實施例中，抗體為人源化單株抗體。在另一具體實施例中，抗體為人類單株抗體。

[0113] 如本文所用，術語「VH 區」及「VL 區」分別係指單一抗體重鏈及輕鏈可變區，其包含 FR (構架區)1、2、3 及 4 以及 CDR (互補決定區) 1、2 及 3 (參見 Kabat 等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (NIH 出版號 91-3242, Bethesda)，其全部以引用方式併入本文)。

[0114] 如本文所用，術語「CDR」或「互補決定區」意謂見於重鏈與輕鏈多肽之可變區內的非連續抗原結合位點。此等特定區域係由 Kabat 等人，*J. Biol. Chem.* 252, 6609-6616 (1977)及 Kabat 等人，*Sequences of protein of immunological interest.* (1991)，Chothia 等人，*J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)及 MacCallum 等人，*J. Mol. Biol.* 262:732-745 (1996)描述，其全部以引用方式併入本文，

其中該等定義包括胺基酸殘基在彼此相比較時之重疊或子集。在某些實施例中，術語「CDR」為如由 MacCallum 等人，J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) 及 Martin A. 「Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,」 in *Antibody Engineering*, Kontermann and Dübel 編，第 31 章，第 422-439 頁，Springer-Verlag, Berlin (2001) 定義之 CDR。在某些實施例中，術語「CDR」為如由 Kabat 等人，J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 及 Kabat 等人，Sequences of protein of immunological interest. (1991) 定義之 CDR。在某些實施例中，使用不同慣例來定義抗體之重鏈 CDR 及輕鏈 CDR。舉例而言，在某些實施例中，重鏈 CDR 係根據 MacCallum (上述) 來定義，且輕鏈 CDR 係根據 Kabat (上述) 來定義。CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 表示重鏈 CDR，且 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 表示輕鏈 CDR。

[0115] 如本文所用，術語「構架(FR)胺基酸殘基」係指免疫球蛋白鏈之構架區中的彼等胺基酸。如本文所用，如本文所用，術語「構架區」或「FR 區」包括作為可變區之部分而非 CDR (例如使用 CDR 之 Kabat 或 MacCallum 定義) 之部分的胺基酸殘基。

[0116] 如本文所用，術語「可變區」及「可變域」可互換使用並且在此項技術中係常見的。可變區通常係指抗體之一部分，一般而言輕鏈或重鏈之一部分，通常成熟重鏈中胺基末端約 110 至 120 個胺基酸或 110 至 125 個胺

基酸及成熟輕鏈中約 90 至 115 個胺基酸，其在抗體之間在序列上廣泛不同並且用於特定抗體針對其特定抗原之結合及特異性中。序列之可變性集中在稱為互補決定區(CDR)之彼等區域中，而可變域中之更高度保守區係稱為構架區(FR)。不希望受任何特定機制或理論束縛，可信輕鏈及重鏈之 CDR 主要負責抗體與抗原之相互作用及特異性。在某些實施例中，可變區為人類可變區。在某些實施例中，可變區包含齧齒動物或鼠科 CDR 及人類構架區(FR)。在具體實施例中，可變區為靈長類動物(例如，非人類靈長類動物)可變區。在某些實施例中，可變區包含齧齒動物或鼠科 CDR 及靈長類動物(例如，非人類靈長類動物)構架區(FR)。

[0117] 術語「VL」與「VL 域」可互換使用以指代抗體之輕鏈可變區。

[0118] 術語「VH」與「VH 域」可互換使用以指代抗體之重鏈可變區。

[0119] 如本文所用，術語「恆定區」與「恆定域」可互換並且在此項技術中係常見的。恆定區為抗體部分，例如，輕鏈及/或重鏈之羧基末端部分，其不直接參與抗體與抗原之結合但可展現各種效應功能，諸如與 Fc 受體(例如，Fcγ 受體)之相互作用。免疫球蛋白分子之恆定區一般相對於免疫球蛋白可變域具有更保守之胺基酸序列。

[0120] 如本文所用，術語「重鏈」在關於抗體使用時可指代基於恆定域之胺基酸序列的任何不同類型，例

如， α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ ，從而分別產生 IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM 類別之抗體，包括 IgG 之子類，例如，IgG₁、IgG₂、IgG₃ 及 IgG₄。

[0121] 如本文所用，術語「輕鏈」在關於抗體使用時可指代基於恆定域之胺基酸序列的任何不同類型，例如， κ 或 λ 。輕鏈胺基酸序列在此項技術中為熟知的。在具體實施方案中，輕鏈為人類輕鏈。

[0122] 如本文所用，術語「EU 編號系統」係指抗體之恆定區之 EU 編號慣例，如在 Edelman, G.M.等人，Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969)及 Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 第 5 版，1991 中所描述，其各自全部以引用方式併入本文。

[0123] 「結合親和力」係指分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用之總強度。除非另外指示，否則如本文所用之「結合親和力」係指反映結合對(例如抗體與抗原)成員之間 1:1 相互作用的固有結合親和力。分子 X 對於其搭配物 Y 之親和力一般可由解離常數(K_D)表示。親和力可以此項技術中已知之許多方法來量測及/或表現，該等方法包括但不限於平衡解離常數(K_D)及平衡締合常數(K_A)。 K_D 係由 k_{off}/k_{on} 之商數來計算，而 K_A 係由 k_{on}/k_{off} 之商數來計算。 k_{on} 係指例如抗體與抗原之締合速率常數，且 k_{off} 係指例如抗體與抗原之解離速率常數。 k_{on} 及 k_{off} 可藉由普通熟習此項

技術者已知之技術，諸如 BIAcore®或 KinExA 來判定。如本文所用，「較低親和力」係指較大 K_D 。

[0124] 如本文所用，術語「特異性結合」、「特異性識別」、「免疫特異性結合」及「免疫特異性識別」為在抗體情況下之類似術語並且係指結合至抗原(例如，表位或免疫複合物)之分子，此結合為熟習此項技術者所理解。舉例而言，特異性結合至抗原之分子一般可以較低親和力結合至其他肽或多肽，如藉由例如免疫檢定、BIAcore®、KinExA3000 儀器(Sapidyne Instruments, Boise, ID)或在此項技術中已知之其他檢定來判定。在具體實施例中，特異性結合至抗原之分子以比分子非特異性結合至另一抗原時之 K_A 大至少 2 個對數(例如，10 之因素)、2.5 個對數、3 個對數、4 個對數或更大的 K_A 結合至抗原。

[0125] 在另一具體實施例中，特異性結合至抗原之分子在類似結合條件下不與其他蛋白質交叉反應。在另一具體實施例中，特異性結合至 TIM-3 之分子不與其他非 TIM-3 蛋白交叉反應。在一具體實施例中，本文提供一種以與結合至另一無關抗原相比更高之親和力結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)的抗體。在某些實施例中，本文提供一種以與結合至另一無關抗原相比高 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更大之親和力結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之抗體，如藉由例如放射免疫檢定、表面電漿共振或動力排阻檢定所量測。在一具體實施例

中，本文所述之抗-TIM-3 抗體與無關的非 TIM-3 蛋白結合之程度小於該抗體與 TIM-3 蛋白結合之 10%、15%或 20%，如藉由例如放射免疫檢定所量測。

[0126] 如本文所用，術語「非岩藻糖化作用」或「非岩藻糖化」在 Fc 之情況下係指直接或間接地共價連接至根據 EU 編號系統所編號之人類 IgG₁ Fc 區之殘基 297，或非 IgG₁ 或非人類 IgG₁ 免疫球蛋白中之相應殘基的岩藻糖之實質性缺乏。因此，在包含複數個非岩藻糖化抗體之組合物中，至少 70%之抗體不會在抗體之 Fc 區之殘基 297 處直接或間接地(例如，經由介入糖)來岩藻糖化，並且在一些實施例中，至少 80%、85%、90%、95%或 99%不會在 Fc 區之殘基 297 處直接或間接地岩藻糖化。

[0127] 如本文所用，「表位」為此項技術中之術語並且係指抗體可特異性結合至的抗原之局部區域。表位可為例如多肽之連續胺基酸(線性或連續表位)或表位可為例如來自一或多個多肽之兩個或兩個以上非連續區域之集合(構形、非線性、不連續或非連續表位)。在某些實施例中，抗體結合至之表位可藉由例如 NMR 光譜術、X 射線繞射結晶學研究、ELISA 檢定、與質譜術關聯之氫/氘交換(例如，液相層析電噴霧質譜術)、基於陣列之寡肽掃描檢定(例如，使用 CLIPS(肽在支架上之化學鍵合)來限制肽以便映射非連續或構形表位)及/或誘變映射(例如，定點誘變映射)來判定。對於 X 射線結晶學，結晶可使用此項技術中已知方法之任一者來實現(例如，Giegé R 等人，

(1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303, 其各自全部以引用方式併入本文)。抗體: 抗原晶體可使用熟知的 X 射線繞射技術來研究並且可使用電腦軟體諸如 X-PLOR(Yale University, 1992, 由 Molecular Simulations, Inc. 發售; 參見例如 *Meth Enzymol* (1985) 第 114 & 115 卷, Wyckoff HW 等人編; U. S. 2004/0014194), 及 BUSTER(Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, Carter CW; Roversi P 等人編, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323)來細化, 其各自全部以引用方式併入本文。誘變映射研究可使用熟習此項技術者已知之任何方法來實現。關於誘變技術, 包括丙胺酸掃描誘變技術的描述, 參見例如 Champe M 等人, (1995) *J Biol Chem* 270: 1388-1394 and Cunningham BC & Wells JA (1989) *Science* 244: 1081-1085, 其各自全部以引用方式併入本文。CLIPS(肽在支架上之化學鍵合)係將一或多種肽以結構受限構型來呈現以便充當複雜蛋白質域之功能模擬物的一種技術。參見, 例如, 美國公開案第 US 2008/0139407 A1 號及第 US 2007/099240 A1 號, 及美國專利第 7,972,993 號, 其中每一者全部以引用方式併入本文。在一具體實施例中, 抗體之表位係使用丙胺酸掃描誘

變研究來判定。在一具體實施例中，抗體之表位係使用與質譜術關聯之氫/氘交換來判定。在一具體實施例中，抗體之表位係使用來自 Pepscan Therapeutics 之 CLIPS 表位映射技術來判定。

[0128] 如本文所用，術語由特定胺基酸序列或一組胺基酸殘基組成的「位於人類 TIM-3 之區域內之表位」係指包含指定區域之一或多個胺基酸殘基的表位，其中指定區域包括人類 TIM-3 之區域的第一個指定胺基酸殘基及最後一個指定胺基酸殘基。在某些實施例中，表位包含位於指定區域內的每一個胺基酸殘基。在某些實施例中，在指定區域外的人類 TIM-3 之一或多個額外胺基酸殘基與位於指定區域內的表位一起結合至抗體。

[0129] 如本文所用，術語「T 細胞受體」及「TCR」可互換使用並且係指全長異源二聚 $\alpha\beta$ 或 $\gamma\delta$ TCR、全長 TCR 之抗原結合片段及包含 TCR CDR 或可變區之分子。TCR 之實例包括但不限於全長 TCR、全長 TCR 之抗原結合片段、缺乏跨膜及細胞質區之可溶性 TCR、含有藉由可撓性連接子連接的 TCR 之可變區的單鏈 TCR、藉由工程化二硫鍵連接之 TCR 鏈、單特異性 TCR、多特異性 TCR(包括雙特異性 TCR)、TCR 融合物、人類 TCR、人源化 TCR、嵌合 TCR、重組產生的 TCR 及合成 TCR。該術語包括野生型 TCR 及基因工程化的 TCR(例如，嵌合 TCR，其包含嵌合 TCR 鏈，該 TCR 鏈包括來自第一物種之 TCR 的第一部分及來自第二物種之 TCR 的第二部分)。

[0130] 如本文所用，術語「主要組織相容性複合物」及「MHC」可互換使用並且係指 MHC I 類分子及/或 MHC II 類分子。

[0131] 如本文所用，術語「肽-MHC 複合物」係指 MHC 分子(MHC I 類或 MHC II 類)，其中肽結合在 MHC 的此項技術中公認之肽結合袋中。

[0132] 如本文所用，術語「治療」係指本文所述之治療或預防措施。「治療」方法採用將抗體投予患有疾病或病症之受試者或易患有該種疾病或病症之受試者，以便預防、治癒、延遲該疾病或病症或復發的疾病或病症、降低其嚴重程度或改善其一或多種症狀，或延長受試者存活使其超過不存在該種治療下之預期存活。

[0133] 如本文所用，術語「有效量」在將療法投予受試者之情況下係指達成所需預防或治療效果的療法之量。

[0134] 如本文所用，術語「受試者」包括任何人類或非人類動物。在一實施例中，受試者為人類或非人類哺乳動物。在一實施例中，受試者為人類。

[0135] 兩個序列(例如，胺基酸序列或核酸序列)之間的「一致性百分比」之判定可使用數學演算法完成。用於比較兩個序列之數學演算法之一具體、非限制性實例為 Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268 之演算法，該演算法如在 Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877 中得以改良，其中各自全部以引用方式併

入本文。該種演算法係併入 Altschul SF 等人，(1990) J Mol Biol 215: 403 之 NBLAST 及 XBLAST 程式中，其全部以引用方式併入本文。可執行 BLAST 核苷酸搜索，其中 NBLAST 核苷酸程式參數設定為例如評分=100，字長=12 以獲得與本文所述之核酸分子同源之核苷酸序列。可執行 BLAST 蛋白質搜索，其中 XBLAST 程式參數設定為例如評分 50，字長=3 以獲得與本文所述之蛋白質分子同源之胺基酸序列。為了便於比較而獲得間隙比對，可如在 Altschul SF 等人，(1997) Nuc Acids Res 25: 3389-3402 中所描述來利用 Gapped BLAST，其全部以引用方式併入本文。或者，PSI BLAST 可用於執行重複搜索，該搜索偵測分子之間的遠近關係(同上)。當利用 BLAST、Gapped BLAST 及 PSI Blast 程式時，可使用相應程式(例如，XBLAST 及 NBLAST)之預設參數(參見，例如，National Center for Biotechnology Information (NCBI) on the worldwide web, ncbi.nlm.nih.gov)。用於序列比較之數學演算法之另一具體、非限制性實例為 Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17 之演算法，其全部以引用方式併入本文。此演算法係併入 ALIGN 程式(2.0 版)中，該程式為 GCG 序列比對軟體套件之部分。當利用 ALIGN 程式來比較胺基酸序列時，可使用 PAM120 權重殘餘表、12 之間隙寬度罰分及 4 之間隙罰分。

[0136] 兩個序列之間的一致性百分比可使用與如上所述技術類似之技術，在允許或不允許間隙的情況下來判

定。在計算一致性百分比時，通常僅計數精確匹配。

[0137] 如本文所用，術語「內化」或「內化的」係指在抗體結合至細胞表面處表現的抗原後，抗體係吸收至細胞之細胞內區室中。

5.2 抗-TIM-3 抗體

[0138] 在一態樣中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且拮抗 TIM-3 功能之抗體。示範性抗體之胺基酸序列在本文表 1-4 中闡明。

表 1. 示範性抗 - TIM - 3 抗體之胺基酸序列

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
1	BADD456-2919 CDRH1	SSYAMS
2	BADD456-2919 CDRH2	WVSAISGSGGSTY
3	BADD456-2919 CDRH3	AKGGDYGGNYFD
4	AM-1 CDRH1	KAGQSS
5	AM-2 CDRH1	RQNAWS
6	AM-3 CDRH1	MSGQTS
7	AM-4 CDRH1	GAGQSS
8	AM-5 CDRH1	SAQQAS
9	AM-6 CDRH1	ARNAWS
10	AM-7 CDRH1	RSQQAS
11	AM-8 CDRH1	TTQQAS
12	AM-9 CDRH1	GGQQAS
13	BADD197-1181 CDRL1	RASQSVSSSYLA
14	BADD412-2513 CDRL1	RASQSVSSSYLA
15	BADD456-2928 CDRL1	RASQGISNYLA
16	BADD466-3169 CDRL1	GASQSVSSSYLA
17	BADD197-1181 CDRL2	GASSRAT
18	BADD456-2928 CDRL2	AASTLQS
19	BADD466-3165 CDRL2	GASTRAT
20	BADD466-3166 CDRL2	DASSRAT
21	BADD466-3167 CDRL2	DASNRAT
22	BADD197-1181 CDRL3	QQYGSSPLT
23	BADD392-2234 CDRL3	QQYGSSPIT
24	BADD456-2919 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGT LTVSS
25	BADD466-3162 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGT LTVSS
26	BADD466-3163 VH	EVQLVESGGGLVQPRGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGT LTVSS
27	AM-1-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKAGQ SSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGT LTVSS
28	AM-2-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRQNA WSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGT LTVSS
29	AM-3-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFMSGQ TSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGT LTVSS

SEQ ID NO:	描述*	氨基酸序列
30	AM-4-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGAGQ SSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLVTVSS
31	AM-5-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAQQ ASWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLVTVSS
32	AM-6-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFARNA WSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLVTVSS
33	AM-7-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSQQ ASWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLVTVSS
34	AM-8-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTQQ ASWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLVTVSS
35	AM-9-VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGQQ ASWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLVTVSS
36	BADD197-1181 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSPLTFGGG TKVEIK
37	BADD412-2513 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSPLTFGGG TKVEIK
38	BADD456-2928 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLA WYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSPLTFGGG TKVEIK
39	BADD466-3164 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSPLTFGGG TKVKIK
40	BADD466-3165 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSPLTFGGG TKVEIK
41	BADD466-3166 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQGSSPLTFGGG TKVEIK

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
42	BADD466-3167 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGG TKVEIK
43	BADD466-3168 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGG TKVEIK
44	BADD466-3169 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCGASQSVSSYLA WYQQKPG LAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGT KVEIK
45	BADD466-3170 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGG TKVEIK
46	BADD466-3171 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPASFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGG TKVEIK
47	BADD466-3172 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGGG TKVEIK
48	CDRH1 共有序列 1	$X_1X_2X_3X_4X_5S$ ，其中： X_1 為 R、S、A、G、K、M 或 T； X_2 為 Q、S、A、G、R 或 T； X_3 為 N、Y、G 或 Q； X_4 為 A 或 Q，且 X_5 為 W、M、A、S 或 T
49	CDRH1 共有序列 2	X_1X_2NAWS ，其中： X_1 為 R 或 A；且 X_2 為 Q 或 R
50	CDRH1 共有序列 3	$X_1X_2GX_3S$ ，其中： X_1 為 K、M 或 G； X_2 為 A 或 S；且 X_3 為 S 或 T
51	CDRH1 共有序列 4	X_1X_2QQAS ，其中： X_1 為 S、R、T 或 G；且 X_2 為 A、S、T 或 G
52	CDRL1 共有序列	$X_1ASQSVX_2SSYLA$ ，其中 X_1 為 R 或 G；且 X_2 不存在或為 S
53	CDRL2 共有序列	X_1ASX_2RAT ，其中： X_1 為 D 或 G；且 X_2 為 N、S 或 T

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
54	CDRL3 共有序列	QQYGSSPX ₁ T，其中 X ₁ 為 L 或 I
55	VH 共有序列	EVQLVESGGGLVQPX ₁ GSLRLSCAASGFTF X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ SWVRX ₇ APGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAKGGDYGGNYFDYWGQGTLVTVSS，其 中： X ₁ 為 G 或 R； X ₂ 為 R、S、A、G、K、M 或 T； X ₃ 為 Q、S、A、G、R 或 T； X ₄ 為 N、Y、G 或 Q； X ₅ 為 A 或 Q； X ₆ 為 W、M、A、S 或 T；並且 X ₇ 為 R 或 Q
56	VL 共有序列	EIVLTQSPX ₁ TLSPGERATLSCX ₂ ASQSVX ₃ SSY LAWYQQKPGX ₄ APRLLIYX ₅ ASX ₆ RATGIPX ₇ X ₈ FS GSGSGTDFLTISX ₉ LEPEDFAVYYCQQYGSSPX ₁ ₀ TFGGGTKVX ₁₁ IK，其中： X ₁ 為 A 或 G； X ₂ 為 R 或 G； X ₃ 不存在或為 S； X ₄ 為 Q 或 L； X ₅ 為 D 或 G； X ₆ 為 N、S 或 T； X ₇ 為 A 或 D； X ₈ 為 S 或 R； X ₉ 為 R 或 S； X ₁₀ 為 L 或 I；且 X ₁₁ 為 E 或 K
57	pab2188 全長 IgG ₁ 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
58	pab2188 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
59	pab2188 全長 IgG ₄ S228P 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYA MSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCP APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSLG
60	AM-1 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFKAGQ SSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
61	AM-2 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRQNA WSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
62	AM-3 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFMSGQ TSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
63	AM-4 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGAGQ SSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
64	AM-5 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAQQ ASWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
65	AM-6 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFARNA WSWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
66	AM-7 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSQQ ASWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
67	AM-8 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTQQ ASWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
68	AM-9 全長 IgG ₁ N297A 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGQQ ASWVRRAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GGDYGGNYFDYWGGGTLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
69	BADD466-3171 全長輕鏈序列	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPASFGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
70	人類 IgG ₁ G1m3 同種異型(沒有 C 末端離胺酸)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
71	人類 IgG ₁ G1m3 同種異型	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
72	IgG ₁ N297A (沒有 C 末端離胺酸)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
73	IgG ₁ N297A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
74	IgG ₄ S228P (沒有 C 末端離胺酸)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
75	IgG ₄ S228P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETVCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK
76	人類 κ 輕鏈恆定區 IGKC*01 Km3 同種異型	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
77	人類 κ 輕鏈恆定區 IGKC*01 Km3 同種異型 (具有 T109S 突變)	RSVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
84	IGHV3-23*04	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
85	IGKV1-27*01	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLA WYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQKYN SAP
86	IGKV3-11*01	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQR SNWP
87	IGKV3-20*01	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSP
88	IGKV3D-20*01	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCGASQSVSSSYLA WYQQKPG LAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSP

* 重鏈 CDR 根據 MacCallum 編號系統來定義並且輕鏈 CDR 根據 Kabat 編號系統來定義。

表 2. 示範性抗-TIM-3 抗體之重鏈 CDR 胺基酸序列

VH	CDRH1*	SEQ ID NO:	CDRH2*	SEQ ID NO:	CDRH3*	SEQ ID NO:
BADD456-2919	SSYAMS	1	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
BADD466-3162	SSYAMS	1	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
BADD466-3163	SSYAMS	1	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-1	KAGQSS	4	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-2	RQNAWS	5	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-3	MSGQTS	6	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-4	GAGQSS	7	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-5	SAQQAS	8	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-6	ARNAWS	9	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-7	RSQQAS	10	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-8	TTQQAS	11	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3
AM-9	GGQQAS	12	WVSAISGSGGSTY	2	AKGGDYGGNYFD	3

* 根據 MacCallum 編號系統來定義。

表 3. 示範性抗-TIM-3 抗體之輕鏈 CDR 胺基酸序列

VL	CDRL1*	SEQ ID NO:	CDRL2*	SEQ ID NO:	CDRL3*	SEQ ID NO:
BADD197-1181	RASQSVSSSYLA	13	GASSRAT	17	QQYGSSPLT	22
BADD412-2513	RASQSVSSSYLA	14	GASSRAT	17	QQYGSSPLT	22
BADD456-2928	RASQGISNYLA	15	AATLQS	18	QQYGSSPLT	22
BADD466-3164	RASQSVSSSYLA	14	GASSRAT	17	QQYGSSPLT	22
BADD466-3165	RASQSVSSSYLA	14	GASTRAT	19	QQYGSSPLT	22
BADD466-3166	RASQSVSSSYLA	14	DASSRAT	20	QQYGSSPLT	22
BADD466-3167	RASQSVSSSYLA	14	DASNRAT	21	QQYGSSPLT	22
BADD466-3168	RASQSVSSSYLA	14	DASNRAT	21	QQYGSSPLT	22
BADD466-3169	GASQSVSSSYLA	16	DASSRAT	20	QQYGSSPLT	22
BADD466-3170	RASQSVSSSYLA	14	DASNRAT	21	QQYGSSPLT	22
BADD466-3171	RASQSVSSSYLA	14	DASNRAT	21	QQYGSSPLT	22
BADD466-3172	RASQSVSSSYLA	14	GASSRAT	17	QQYGSSPIT	23

* 根據 Kabat 編號系統來定義。

表 4. 示範性抗 - TIM - 3 抗體

抗體	重鏈可變區	SEQ ID NO:	輕鏈可變區	SEQ ID NO:
pab2085	BADD456-2919	24	BADD197-1181	36
pab2088	BADD456-2919	24	BADD456-2928	38
pab2173	BADD466-3163	26	BADD466-3167	42
pab2174	BADD456-2919	24	BADD466-3167	42
pab2175	BADD456-2919	24	BADD466-3171	46
pab2176	BADD456-2919	24	BADD466-3168	43
pab2177	BADD466-3163	26	BADD466-3168	43
pab2178	BADD466-3163	26	BADD466-3171	46
pab2179	BADD466-3163	26	BADD466-3166	41
pab2180	BADD456-2919	24	BADD466-3166	41
pab2181	BADD466-3162	25	BADD466-3164	39
pab2182	BADD456-2919	24	BADD466-3172	47
pab2183	BADD466-3162	25	BADD466-3165	40
pab2184	BADD466-3163	26	BADD466-3172	47
pab2185	BADD466-3162	25	BADD412-2513	37
pab2186	BADD466-3162	25	BADD466-3170	45
pab2187	BADD466-3162	25	BADD466-3169	44
pab2188	BADD466-3162	25	BADD466-3171	46
pab2189	BADD466-3162	25	BADD466-3167	42
pab2190	BADD466-3162	25	BADD466-3166	41
pab2191	BADD466-3162	25	BADD466-3168	43
pab2192	BADD466-3162	25	BADD466-3172	47
AM-1	AM-1-VH	27	BADD466-3171	46
AM-2	AM-2-VH	28	BADD466-3171	46
AM-3	AM-3-VH	29	BADD466-3171	46
AM-4	AM-4-VH	30	BADD466-3171	46
AM-5	AM-5-VH	31	BADD466-3171	46
AM-6	AM-6-VH	32	BADD466-3171	46
AM-7	AM-7-VH	33	BADD466-3171	46
AM-8	AM-8-VH	34	BADD466-3171	46
AM-9	AM-9-VH	35	BADD466-3171	46

表 5. 最接近的生殖系基因

重鏈或輕鏈可變區	最接近的生殖系基因	生殖系基因之 SEQ ID NO:
BADD456-2919 VH	IGHV3-23*04	84
BADD466-3162 VH	IGHV3-23*04	84
BADD466-3163 VH	IGHV3-23*04	84
AM-1-VH	IGHV3-23*04	84
AM-2-VH	IGHV3-23*04	84
AM-3-VH	IGHV3-23*04	84
AM-4-VH	IGHV3-23*04	84
AM-5-VH	IGHV3-23*04	84
AM-6-VH	IGHV3-23*04	84
AM-7-VH	IGHV3-23*04	84
AM-8-VH	IGHV3-23*04	84
AM-9-VH	IGHV3-23*04	84
BADD197-1181 VL	IGKV3-20*01	87
BADD412-2513 VL	IGKV3-20*01	87
BADD456-2928 VL	IGKV1-27*01	85
BADD466-3164 VL	IGKV3-20*01	87
BADD466-3165 VL	IGKV3-20*01	87
BADD466-3166 VL	IGKV3-20*01	87
BADD466-3167 VL	IGKV3-11*01	86
BADD466-3168 VL	IGKV3-20*01	87
BADD466-3169 VL	IGKV3D-20*01	88
BADD466-3170 VL	IGKV3-11*01	86
BADD466-3171 VL	IGKV3-11*01	86
BADD466-3172 VL	IGKV3-20*01	87

表 6. TIM-3 之示範性序列

SEQ ID NO:	描述*	胺基酸序列
78	人類 TIM-3 未成熟蛋白 (Q8TDQ0-1)	MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAY LPCFYTPAAPGNLVPVCWVGKGACPVFECGNVVLRT DERDVNYWTSRYWLNNGDFRKGDVSLTIENVTLAD SGIYCCRIQIPGIMNDEKFNCLKLVKPAKVTPAPTRQ RDFTAAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQIS TLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLA LALIFGALIFKWYSHSKEKIQNLSLISLANLPPSGLA NAVAEGIRSEENIYTIENNVYEVEEPNEYCYVSSR QQPSQPLGCRFAMP
79	人類 TIM-3 成熟蛋白	SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWVGK GACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNNGDFR KGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNCLK LVKPAKVTPAPTRQRDFTAAAFPRMLTTRGHGPAET QTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATI RIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKIQN LSLISLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIENNVYE VEEPNEYCYVSSRQQPSQPLGCRFAMP
101	人類 TIM-3 F40A	SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWVGK GACPVAECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNNGDF RKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNCLK LVKPAKVTPAPTRQRDFTAAAFPRMLTTRGHGPA ETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSG ATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKI QNLSLISLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIENNV YEVEEPNEYCYVSSRQQPSQPLGCRFAMP
102	人類 TIM-3 片段	SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWVGK GACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNNGDFR KGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNCLK LVKPAKVTPAPTRQRDFTAAAFPRMLTTRGHGPAET QTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATI R
93	TIM-3 表位	PVFECGN
94	TIM-3 表位	VCWVGKGACPVFECGNVVL
95	TIM-3 表位	RIQIPGIMND
96	TIM-3 表位	RIQIPGIMNDEKFNCLK
97	TIM-3 表位	EKFNCLK
98	TIM-3 表位	PAAPGNLVP
99	TIM-3 表位	GKGACPVFE
100	TIM-3 表位	DFTAAAFPR

[0139] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包

含 VH 域，該 VH 域包含在本文表 1 中闡明的 VH 域之一個、兩個或所有三個 CDR。在某些實施例中，抗體包含表 1 中闡明之 VH 域中之一者的 CDRH1。在某些實施例中，抗體包含表 1 中闡明之 VH 域中之一者的 CDRH2。在某些實施例中，抗體包含表 1 中闡明之 VH 域中之一者的 CDRH3。

[0140] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含 VL 域，該 VL 域包含在本文表 1 中揭示的 VL 域之一個、兩個或所有三個 CDR。在某些實施例中，抗體包含表 1 中闡明之 VL 域中之一者的 CDRL1。在某些實施例中，抗體包含表 1 中闡明之 VL 域中之一者的 CDRL2。在某些實施例中，抗體包含表 1 中闡明之 VL 域中之一者的 CDRL3。

[0141] 在某些實施例中，抗體之 CDR 可根據 MacCallum RM 等人，(1996) J Mol Biol 262: 732-745 來判定，其全部以引用方式併入本文。亦參見例如 Martin A. 「Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,」 *Antibody Engineering*, Kontermann and Dübel 編，第 31 章，第 422-439 頁，Springer-Verlag, Berlin (2001)，其全部以引用方式併入本文。在某些實施例中，抗體之重鏈 CDR 根據 MacCallum 來判定並且抗體之輕鏈 CDR 根據不同方法判定。

[0142] 在某些實施例中，抗體之 CDR 可根據 Kabat

等人，J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977)及 Kabat 等人，Sequences of protein of immunological interest (1991) 來判定，其各自全部以引用方式併入本文。在某些實施例中，抗體之輕鏈 CDR 根據 Kabat 來判定並且抗體之重鏈 CDR 根據 MacCallum(上述)來判定。

[0143] 在某些實施例中，抗體之 CDR 可根據 Chothia 編號方案來判定，該編號方案涉及免疫球蛋白結構環之位置(參見，例如，Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B 等人，(1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C 等人，(1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A 等人，(1990) J Mol Biol 215(1): 175-82；及美國專利第 7,709,226 號，其全部以引用方式併入本文)。通常，在使用 Kabat 編號慣例時，Chothia CDRH1 環存在於重鏈胺基酸 26 至 32、33 或 34 處，Chothia CDRH2 環存在於重鏈胺基酸 52 至 56 處，並且 Chothia CDRH3 環存在於重鏈胺基酸 95 至 102 處，而 Chothia CDRL1 環存在於輕鏈胺基酸 24 至 34 處，Chothia CDRL2 環存在於輕鏈胺基酸 50 至 56 處，並且 Chothia CDRL3 環存在於輕鏈胺基酸 89 至 97 處。當使用 Kabat 編號慣例編號時，Chothia CDRH1 環之末端視環之長度在 H32 與 H34 之間變化(此係由於 Kabat 編號方案將插入物置於 H35A 及 H35B 處；若 35A 或 35B 不存在，則環結束於 32 處；若僅 35A 存在，則環結束於 33 處；若 35A 及 35B 均存在，則環結束於 34 處)。

[0144] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含在本文表 1 中揭示之 VH 的 Chothia VH CDR。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含在本文表 1 中揭示之 VL 的 Chothia VL CDR。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含在本文表 1 中揭示之抗體的 Chothia VH CDR 及 Chothia VL CDR。在某些實施例中，特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之抗體包含一或多個 CDR，其中 Chothia 及 Kabat CDR 具有相同胺基酸序列。在某些實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，該抗體特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且包含 Kabat CDR 與 Chothia CDR 之組合。

[0145] 在某些實施例中，抗體之 CDR 可根據如在 Lefranc M-P, (1999) *The Immunologist* 7: 132-136 及 Lefranc M-P 等人，(1999) *Nucleic Acids Res* 27: 209-212 中描述之 IMGT 編號系統來判定，其各自全部以引用方式併入本文。根據 IMGT 編號方案，CDRH1 在位置 26 至 35 處，CDRH2 在位置 51 至 57 處，CDRH3 在位置 93 至 102 處，CDRL1 在位置 27 至 32 處，CDRL2 在位置 50 至 52 處且 CDRL3 在位置 89 至 97 處。

[0146] 在某些實施例中，本揭示案提供抗體，該等抗體特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且包含本

文表 1 中所揭示的抗體之 CDR，如藉由 IMGT 編號系統來判定，例如如在 Lefranc M-P (1999)上文及 Lefranc M-P 等人，(1999)上文中所述。

[0147] 在某些實施例中，抗體之 CDR 可根據涉及 AbM 高變區之 AbM 編號方案來判定，該編號方案代表 Kabat CDR 與 Chothia 結構環之間的折衷，並且藉由 Oxford Molecular 之 AbM 抗體模型軟體(Oxford Molecular Group, Inc.)來使用，其全部以引用方式併入本文。在一特定實施例中，本揭示案提供抗體，該等抗體特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且包含本文表 1 中所揭示的抗體之 CDR，如藉由 AbM 編號方案來判定。

[0148] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中抗體包含含有在 SEQ ID NO: 24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34 或 35 中闡明的 VH 域之 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 區胺基酸序列的重鏈可變區，及包含在 SEQ ID NO: 36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46 或 47 中闡明的 VL 域之 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區胺基酸序列的輕鏈可變區，其中每個 CDR 係根據 MacCallum 定義、Kabat 定義、Chothia 定義、Kabat 定義與 Chothia 定義之組合、IMGT 編號系統或 CDR 之 AbM 定義來界定。

[0149] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含：

(a) CDRH1 包含 $X_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 48)之胺基酸序列，其中

X_1 為 R、S、A、G、K、M 或 T，

X_2 為 Q、S、A、G、R 或 T，

X_3 為 N、Y、G 或 Q，

X_4 為 A 或 Q，且

X_5 為 W、M、A、S 或 T；及/或

(b) CDRH2 包含 WVSAISGSGGSTY(SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列；及/或

(c) CDRH3 包含 AKGGDYGGNYFD (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列；及/或

(d) CDRL1 包含 $X_1ASQSVX_2SSYLA$ (SEQ ID NO: 52)之胺基酸序列，其中

X_1 為 R 或 G，且

X_2 不存在或為 S；及/或

(e) CDRL2 包含 X_1ASX_2RAT (SEQ ID NO: 53)之胺基酸序列，其中

X_1 為 D 或 G，且

X_2 為 N、S 或 T；及/或

(f) CDRL3 包含 QQYGSSPX₁T(SEQ ID NO: 54)之胺基酸序列，其中 X_1 為 L 或 I。

[0150] 在某些實施例中，CDRH1 包含 X_1X_2NAWS (SEQ ID NO: 49)之胺基酸序列，其中： X_1 為 R 或 A；且 X_2 為 Q 或 R。在某些實施例中，CDRH1 包含 $X_1X_2GQX_3S$

(SEQ ID NO: 50)之胺基酸序列，其中：X₁ 為 K、M 或 G；X₂ 為 A 或 S；且 X₃ 為 S 或 T。在某些實施例中，CDRH1 包含 X₁X₂QQAS(SEQ ID NO: 51)之胺基酸序列，其中：X₁ 為 S、R、T 或 G；且 X₂ 為 A、S、T 或 G。在某些實施例中，CDRH1 包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 1 及 4-12。在某些實施例中，CDRL1 包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 13-16。在某些實施例中，CDRL2 包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 17-21。在某些實施例中，CDRL3 包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：SEQ ID NO: 22 及 23。

[0151] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有分別在以下各項中闡明之 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 胺基酸序列的 VH 域：SEQ ID NO: 1、2 及 3；4、2 及 3；5、2 及 3；6、2 及 3；7、2 及 3；8、2 及 3；9、2 及 3；10、2 及 3；11、2 及 3；或 12、2 及 3。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有分別在 SEQ ID NO: 1、2 及 3 中闡明之 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 胺基酸序列的 VH 域。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有分別在 SEQ ID NO: 5、2 及 3 中闡明之 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 胺基酸序列的 VH

域。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有分別在 SEQ ID NO: 9、2 及 3 中闡明之 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 胺基酸序列的 VH 域。

[0152] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有分別在以下各項中闡明之 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 胺基酸序列的 VL 域：SEQ ID NO: 13、17 及 22；14、17 及 22；15、18 及 22；14、19 及 22；14、20 及 22；14、21 及 22；16、20 及 22；或 14、17 及 23。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有分別在 SEQ ID NO: 14、21 及 22 中闡明之 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 胺基酸序列的 VL 域。

[0153] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 區之重鏈可變區，以及含有 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列：SEQ ID NO: 1、2、3、14、21 及 22；4、2、3、14、21 及 22；5、2、3、14、21 及 22；6、2、3、14、21 及 22；7、2、3、14、21 及 22；8、2、3、14、21 及 22；9、2、3、14、21 及 22；10、2、3、14、21 及 22；11、2、3、

14、21 及 22；或 12、2、3、14、21 及 22。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 區之重鏈可變區，以及含有 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區包含分別在 SEQ ID NO: 1、2、3、14、21 及 22 中闡明之胺基酸序列。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 區之重鏈可變區，及含有 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區包含分別在 SEQ ID NO: 5、2、3、14、21 及 22 中闡明之胺基酸序列。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中該抗體包含含有 CDRH1、CDRH2 及 CDRH3 區之重鏈可變區，及含有 CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區之輕鏈可變區，其中 CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2 及 CDRL3 區包含在 SEQ ID NO: 9、2、3、14、21 及 22 中闡明之胺基酸序列。

[0154] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例

如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有與在 SEQ ID NO: 24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34 或 35 中闡明之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%或 100%(例如，至少 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98 或 99%)相同之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34 或 35 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 24 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 25 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 26 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 27 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 28 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 29 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 30 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 31 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 32 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 33 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 34 中

闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 35 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區。在某些實施例中，如本文描述之抗體之重鏈可變區的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0155] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有與在 SEQ ID NO: 36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46，或 47 中闡明之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%或 100%(例如，至少 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98 或 99%)相同之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46 或 47 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 36 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 37 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 38 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 39 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 40 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具

有在 SEQ ID NO: 41 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 42 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 43 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 44 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 45 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 46 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 47 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，如本文描述之抗體之輕鏈可變區的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0156] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的重鏈可變區，及含有 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有與在 SEQ ID NO: 24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34 或 35 中闡明之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%或 100%(例如，至少 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98 或 99%)相同之胺基酸序列的重鏈可變區，及含有與在 SEQ ID NO: 36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46 或 47 中闡明之胺基酸序列

至少 75%、80%、85%、90%、95%或 100%(例如，至少 86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98 或 99%)相同之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有在 SEQ ID NO: 24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34 或 35 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區，及具有在 SEQ ID NO: 36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46 或 47 中闡明之胺基酸序列的輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在以下各項中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區：SEQ ID NO: 24 及 36；24 及 38；26 及 42；24 及 42；24 及 46；24 及 43；26 及 43；26 及 46；26 及 41；24 及 41；25 及 39；24 及 47；25 及 40；26 及 47；25 及 37；25 及 45；25 及 44；25 及 46；25 及 42；25 及 41；25 及 43；25 及 47；27 及 46；28 及 46；29 及 46；30 及 46；31 及 46；32 及 46；33 及 46；34 及 46；或 35 及 46。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 24 及 36 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 24 及 38 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 26 及 42 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 24 及 42 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 24 及 46 中闡明之

胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 24 及 43 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 26 及 43 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 26 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 26 及 41 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 24 及 41 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 39 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 24 及 47 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 40 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 26 及 47 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 37 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 45 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 44 中闡明之

胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 42 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 41 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 43 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 25 及 47 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 27 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 28 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 29 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 30 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 31 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 32 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 33 及 46 中闡明之

胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 34 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，抗體包含具有分別在 SEQ ID NO: 35 及 46 中闡明之胺基酸序列的重鏈可變區及輕鏈可變區。在某些實施例中，如本文描述之抗體之重鏈可變區的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基且/或抗體之輕鏈可變區的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0157] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含具有衍生自人類 IGHV3-23 生殖系序列(例如，IGHV3-23*04，例如，具有 SEQ ID NO: 84 之胺基酸序列)之胺基酸序列的重鏈可變區。選自構架 1、構架 2、構架 3、CDRH1 及 CDRH2 之一或多個區域(例如，此等區域中之兩者、三者、四者或五者)可衍生自人類 IGHV3-23 生殖系序列(例如，IGHV3-23*04，例如，具有 SEQ ID NO: 84 之胺基酸序列)。在一實施例中，構架 1、構架 2、構架 3、CDRH1 及 CDRH2 全部衍生自人類 IGHV3-23 生殖系序列(例如，IGHV3-23*04，例如，具有 SEQ ID NO: 84 之胺基酸序列)。

[0158] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含具有衍生自選自由以下組成之群的人類生殖系序列之胺基酸序列的輕鏈可變區：IGKV1-27(例如，IGKV1-

27*01，例如，具有 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列)、IGKV3-11(例如，IGKV3-11*01，例如，具有 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列)、IGKV3-20(例如，IGKV3-20*01，例如，具有 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列)以及 IGKV3D-20(例如，IGKV3D-20*01，例如，具有 SEQ ID NO: 88 之胺基酸序列)。選自構架 1、構架 2、構架 3、CDRL1 及 CDRL2 之一或多個區域(例如，此等區域中之兩者、三者、四者或五者)可衍生自選自由以下組成之群的人類生殖系序列：IGKV1-27(例如，IGKV1-27*01，例如，具有 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列)、IGKV3-11(例如，IGKV3-11*01，例如，具有 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列)、IGKV3-20(例如，IGKV3-20*01，例如，具有 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列)以及 IGKV3D-20(例如，IGKV3D-20*01，例如，具有 SEQ ID NO: 88 之胺基酸序列)。在一實施例中，構架 1、構架 2、構架 3、CDRL1 及 CDRL2 全部衍生自選自由以下組成之群的人類生殖系序列：IGKV1-27(例如，IGKV1-27*01，例如，具有 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列)、IGKV3-11(例如，IGKV3-11*01，例如，具有 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列)、IGKV3-20(例如，IGKV3-20*01，例如，具有 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列)以及 IGKV3D-20(例如，IGKV3D-20*01，例如，具有 SEQ ID NO: 88 之胺基酸序列)。

[0159] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包

含具有衍生自人類 IGHV3-23 生殖系序列(例如，IGHV3-23*04，例如，具有 SEQ ID NO: 84 之胺基酸序列)之胺基酸序列的重鏈可變區，及具有衍生自選自由以下組成之群的人類生殖系序列之胺基酸序列的輕鏈可變區：IGKV1-27(例如，IGKV1-27*01，例如，具有 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列)、IGKV3-11(例如，IGKV3-11*01，例如，具有 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列)、IGKV3-20(例如，IGKV3-20*01，例如，具有 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列)及 IGKV3D-20(例如，IGKV3D-20*01，例如，具有 SEQ ID NO: 88 之胺基酸序列)。

[0160] 在某些實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，該抗體與包含分別在以下各項中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體交叉競爭結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)：SEQ ID NO: 24 及 36；24 及 38；26 及 42；24 及 42；24 及 46；24 及 43；26 及 43；26 及 46；26 及 41；24 及 41；25 及 39；24 及 47；25 及 40；26 及 47；25 及 37；25 及 45；25 及 44；25 及 46；25 及 42；25 及 41；25 及 43；25 及 47；27 及 46；28 及 46；29 及 46；30 及 46；31 及 46；32 及 46；33 及 46；34 及 46；或 35 及 46。

[0161] 在某些實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，該抗體與本文所述之抗體，例如，包含分別在以下各項中闡明之胺基酸序列之重鏈及輕鏈可變區的抗體結合至 TIM-3 之相同或重疊表位(例如，人類 TIM-3 之表位)：

SEQ ID NO: 24 及 36 ; 24 及 38 ; 26 及 42 ; 24 及 42 ; 24 及 46 ; 24 及 43 ; 26 及 43 ; 26 及 46 ; 26 及 41 ; 24 及 41 ; 25 及 39 ; 24 及 47 ; 25 及 40 ; 26 及 47 ; 25 及 37 ; 25 及 45 ; 25 及 44 ; 25 及 46 ; 25 及 42 ; 25 及 41 ; 25 及 43 ; 25 及 47 ; 27 及 46 ; 28 及 46 ; 29 及 46 ; 30 及 46 ; 31 及 46 ; 32 及 46 ; 33 及 46 ; 34 及 46 ; 或 35 及 46 。 在某些實施例中，抗體之表位可藉由例如 NMR 光譜術、表面電漿子共振(BIAcore[®])、X 射線繞射結晶學研究、ELISA 檢定、與質譜術關聯之氫/氘交換(例如，液相層析電噴霧質譜術)、基於陣列之寡肽掃描檢定及/或誘變映射(例如，定點誘變映射)來判定。對於 X 射線結晶學，結晶可使用此項技術中之已知方法中之任一者來實現(例如，Giegé R 等人，(1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350 ; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303，其全部以引用方式併入本文)。抗體:抗原晶體可使用熟知的 X 射線繞射技術來研究並且可使用電腦軟體諸如 X-PLOR(Yale University, 1992，由 Molecular Simulations, Inc.發售；參見例如 *Meth Enzymol* (1985) 第 114 & 115 卷，Wyckoff HW 等人編；美國專利申請案第 2004/0014194 號)，及 BUSTER(Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, Carter CW ; Roversi P 等人編，

(2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323, 其全部以引用方式併入本文)來細化。誘變映射研究可使用熟習此項技術者已知之任何方法來實現。關於誘變技術, 包括丙胺酸掃描誘變技術的描述, 參見例如 Champe M 等人, (1995)上述及 Cunningham BC & Wells JA (1989)上述。在一具體實施例中, 抗體之表位使用丙胺酸掃描誘變研究來判定。另外, 識別並結合至 TIM-3 (例如, 人類 TIM-3)之相同或重疊表位之抗體可使用常規技術, 諸如免疫檢定, 例如藉由顯示一種抗體阻斷另一抗體與標靶抗原之結合的能力(亦即競爭性結合檢定)來鑒別。競爭結合檢定亦可用於判定兩個抗體是否具有針對表位之類似結合特異性。競爭性結合於檢定中測定, 在該檢定中所測試之免疫球蛋白抑制參考抗體與共同抗原諸如 TIM-3 (例如人類 TIM-3)之特異性結合。許多類型之競爭性結合檢定為已知的, 例如: 固相直接或間接放射免疫檢定(RIA), 固相直接或間接酶免疫檢定(EIA), 夾心競爭檢定(參見 Stahli C 等人, (1983) *Methods Enzymol* 9: 242-253); 固相直接生物素-抗生物素蛋白 EIA(參見 Kirkland TN 等人, (1986) *J Immunol* 137: 3614-9); 固相直接標記檢定, 固相直接標記夾心檢定(參見 Harlow E & Lane D, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press); 使用 I-125 標記之固相直接標記 RIA(參見 Morel GA 等人, (1988) *Mol Immunol* 25(1): 7-15); 固相直接生物素-抗生物素蛋白 EIA(參見 Cheung RC 等人,

(1990) *Virology* 176: 546-52); 以及直接標記 RIA(參見 Moldenhauer G 等人, (1990) *Scand J Immunol* 32: 77-82), 其全部以引用方式併入本文。通常, 該種檢定涉及使用與固體表面結合之經純化抗原(例如 TIM-3, 諸如人類 TIM-3), 或帶有該等未標記之測試免疫球蛋白及經標記參考免疫球蛋白中任一者之細胞。競爭性抑制可藉由在測試免疫球蛋白存在下測定與固體表面或細胞結合的標記之量來量測。通常, 測試免疫球蛋白過量存在。通常, 當競爭性抗體過量存在時, 其將抑制參考抗體與共同抗原之特異性結合達至少 50-55%、55-60%、60-65%、65-70%、70-75%或更高。競爭結合檢定可以使用標記抗原或標記抗體的多種不同方式來組態。在此檢定之常見型式, 抗原係固定在 96 孔板上。接著, 未標記之抗體阻斷標記抗體結合至抗原之能力係使用放射性或酶標記來量測。關於進一步詳情, 參見, 例如, Wagener C 等人, (1983) *J Immunol* 130: 2308-2315; Wagener C 等人, (1984) *J Immunol Methods* 68: 269-274; Kuroki M 等人, (1990) *Cancer Res* 50: 4872-4879; Kuroki M 等人, (1992) *Immunol Invest* 21: 523-538; Kuroki M 等人, (1992) *Hybridoma* 11: 391-407 and *Antibodies: A Laboratory Manual*, Ed Harlow E & Lane D 編著上述, 第 386-389 頁, 其全部以引用方式併入本文。

[0162] 在某些實施例中, 本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如, 人類 TIM-3)之分離抗體, 該抗體包

含有在以下各項中闡明之胺基酸序列的重鏈：SEQ ID NO: 57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67 或 68。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 57 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 58 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 59 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 60 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 61 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 62 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 63 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 64 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 65 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 66 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 67 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，抗體包含含有在 SEQ ID NO: 68 中闡明之胺基酸序列的重鏈。在某些實施例中，如本文描述之抗體之重鏈的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0163] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有在 SEQ ID NO: 69 中闡明之胺基酸序列的輕鏈。在

某些實施例中，如本文描述之抗體之輕鏈的 N 末端麩胺酸 (E) 殘基經置換成焦麩胺酸 (pE) 殘基。

[0164] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3 (例如，人類 TIM-3) 之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3 (例如，人類 TIM-3) 之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3 (例如，人類 TIM-3) 之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3 (例如，人類 TIM-3) 之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3 (例如，人類 TIM-3) 之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3 (例如，人類 TIM-3) 之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3 (例如，人類 TIM-3) 之分離抗體，該抗體包含含有

SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 64 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列的重鏈及含有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的輕鏈。在某些實施例中，如本文描述之抗體之重鏈的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基且/或抗體之輕鏈的 N 末端麩胺酸(E)殘基經置換成焦麩胺酸(pE)殘基。

[0165] 任何 Ig 恆定區皆可用於本文揭示之抗體中。在某些實施例中，Ig 區為人類 IgG、IgE、IgM、IgD、IgA 或 IgY 免疫球蛋白分子、任何類別(例如，IgG₁、IgG₂、

IgG₃、IgG₄、IgA₁ 及 IgA₂)、或任何子類(例如，IgG_{2a} 及 IgG_{2b})之免疫球蛋白分子。

[0166] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 70、71、72、73、74 或 75 之胺基酸序列的重鏈恆定區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 76 或 77 之胺基酸序列的輕鏈恆定區。

[0167] 在某些實施例中，一個、兩個或兩個以上突變(例如，胺基酸取代)係引入本文所述之抗體之 Fc 區(例如，CH2 域(人類 IgG₁ 之殘基 231-340)及/或 CH3 域(人類 IgG₁ 之殘基 341-447)及/或鉸鏈區，該等殘基根據 EU 編號系統來編號)中，以改變抗體之一或多種功能性質，諸如血清半衰期、補體結合、Fc 受體結合及/或抗原依賴性細胞毒性。

[0168] 在某些實施例中，一個、兩個或兩個以上突變(例如，胺基酸取代)係引入 Fc 區之鉸鏈區(CH1 域)中使得鉸鏈區中之半胱胺酸殘基之數目改變(例如，增加或減少)，如例如美國專利第 5,677,425 號中所描述，其全部以引用方式併入本文。CH1 域之鉸鏈區中之半胱胺酸殘基之數目可改變以便例如促進輕鏈及重鏈之組裝，或改變(例如，增加或減小)抗體之穩定性。

[0169] 在一具體實施例中，一個、兩個或兩個以上

胺基酸突變(例如，取代、插入或缺失)係引入 IgG 恆定域或其 FcRn 結合片段(較佳 Fc 或鉸鏈-Fc 域片段)中以便改變(例如，減小或增加)抗體在活體內之半衰期。關於改變(例如，減小或增加)抗體之活體內半衰期的突變之實例，參見，例如國際公開案第 WO 02/060919 號；第 WO 98/23289 號；及第 WO 97/34631 號；及美國專利第 5,869,046 號、第 6,121,022、第 6,277,375 號及第 6,165,745 號，其全部以引用方式併入本文。在一些實施例中，一個、兩個或兩個以上胺基酸突變(例如，取代、插入或缺失)係引入 IgG 恆定域或其 FcRn-結合片段(較佳 Fc 或鉸鏈-Fc 域片段)中以便降低抗體在活體內之半衰期。在其他實施例中，一個、兩個或兩個以上胺基酸突變(例如，取代、插入或缺失)係引入 IgG 恆定域或其 FcRn 結合片段(較佳 Fc 或鉸鏈-Fc 域片段)中以便增加抗體在活體內之半衰期。在一具體實施例中，抗體可在第二恆定(CH2)域(人類 IgG₁ 之殘基 231-340)及/或第三恆定(CH3)域(人類 IgG₁ 之殘基 341-447)中具有一或多個胺基酸突變(例如，取代)，該等結構域係根據 EU 編號系統來編號。在一具體實施例中，本文所述之抗體之 IgG₁ 的恆定區包含在位置 252 處甲硫胺酸(M)至酪胺酸(Y)的取代、在位置 254 處絲胺酸至酰胺酸(T)的取代及在位置 256 處酰胺酸(T)至麩胺酸(E)的取代，該等位置係根據 EU 編號系統來編號。參見美國專利第 7,658,921 號，其全部以引用方式併入本文。已證明與野生型之相同抗體相比，被稱為「YTE 突變體」的此類型

之突變 IgG 顯示增加四倍之半衰期(參見 Dall'Acqua WF 等人，(2006) J Biol Chem 281: 23514-24，其全部以引用方式併入本文)。在某些實施例中，抗體包含 IgG 恆定域，該恆定域包含位置 251-257、285-290、308-314、385-389 及 428-436 處之胺基酸殘基的一個、兩個、三個或三個以上胺基酸取代，該等殘基係根據 EU 編號系統來編號。

[0170] 在一些實施例中，一個、兩個或兩個以上突變(例如，胺基酸取代)係引入本文所述之抗體之 Fc 區(例如，CH2 域(人類 IgG₁ 之殘基 231-340)及/或 CH3 域(人類 IgG₁ 之殘基 341-447)及/或鉸鏈區，該等區域根據 EU 編號系統來編號)中，以便增加或減小抗體對於效應細胞表面上之 Fc 受體(例如，活化的 Fc 受體)之親和力。抗體之 Fc 區中降低或增加抗體對於 Fc 受體之親和力的突變以及將此等突變引入 Fc 受體或其片段中之技術為熟習此項技術者已知的。可在抗體之 Fc 受體中產生以便改變抗體對於 Fc 受體之親和力的突變之實例在例如 Smith P 等人，(2012) PNAS 109: 6181-6186，美國專利第 6,737,056 號及國際公開案第 WO 02/060919 號；第 WO 98/23289 號；及第 WO 97/34631 號中描述，其全部以引用方式併入本文。

[0171] 在另一實施例中，一個、兩個或兩個以上胺基酸取代係引入 IgG 恆定域 Fc 區中以改變抗體之效應功能。舉例而言，選自(根據 EU 編號系統編號之)胺基酸殘基 234、235、236、237、297、318、320 及 322 之一或多

個胺基酸可置換成不同胺基酸殘基以使得抗體具有針對效應配位體之改變的親和力但仍保留親本抗體之抗原結合能力。親和力得以針對性改變之效應配位體可為例如 Fc 受體或補體之 C1 成分。此方法在美國專利第 5,624,821 號及第 5,648,260 號中進一步詳細地描述，其各自全部以引用方式併入本文。在一些實施例中，恆定區域之缺失或不活化(經由點突變或其他手段)可減少循環抗體之 Fc 受體結合，藉此增強腫瘤局部化。關於使恆定域缺失或不活化且由此增強腫瘤局部化之突變的描述，參見例如美國專利第 5,585,097 號及第 8,591,886 號，其各自全部以引用方式併入本文。在某些實施例中，一或多個胺基酸取代可引入本文所述之抗體之 Fc 區中以移除 Fc 區上之潛在糖基化位點，從而可減少 Fc 受體結合(參見，例如，Shields RL 等人，(2001) J Biol Chem 276: 6591-604，其全部以引用方式併入本文)。在各種實施例中，可產生本文所述抗體之恆定區中的以下突變中之一或多者：N297A 取代；N297Q 取代；L235A 取代及 L237A 取代；L234A 取代及 L235A 取代；E233P 取代；L234V 取代；L235A 取代；C236 缺失；P238A 取代；D265A 取代；A327Q 取代；或 P329A 取代，該等取代根據 EU 編號系統來編號。在某些實施例中，可在本文所述抗體之恆定區中產生選自由 D265A、P329A 及其組合組成之群的突變，該等突變根據 EU 編號系統來編號。

[0172] 在一具體實施例中，本文所述之抗體包含具

有根據 EU 編號系統編號之 N297Q 或 N297A 胺基酸取代的 IgG₁ 恆定域。在一實施例中，本文所述之抗體包含具有選自由 D265A，P329A 及其組合組成之群之突變的 IgG₁ 恆定域，該突變根據 EU 編號系統來編號。在另一實施例中，本文所述之抗體包含具有選自由 L234A、L235A 及其組合組成之群之突變的 IgG₁ 恆定域，該突變根據 EU 編號系統來編號。在某些實施例中，本文所述之抗體之恆定區中的與人類 IgG₁ 重鏈之位置 L234、L235 及 D265 對應之位置中的胺基酸殘基分別不為 L、L 及 D，該等位置根據 EU 編號系統來編號。此方法在國際公開案第 WO 14/108483 號中詳細描述，其全部以引用方式併入本文。在一特定實施例中，與人類 IgG₁ 重鏈之位置 L234、L235 及 D265 對應之胺基酸分別為 F、E 及 A；或 A、A 及 A，該等位置根據 EU 編號系統來編號。

[0173] 在某些實施例中，選自本文所述之抗體之恆定區中的胺基酸殘基 329、331 及 322 之一或多個胺基酸可置換成不同胺基酸殘基以使得抗體具有改變之 C1q 結合及/或降低或消除的補體依賴性細胞毒性(CDC)，該等殘基根據 EU 編號系統來編號。此方法在美國專利第 6,194,551 號(Idusogie 等人)中進一步詳細描述，其全部以引用方式併入本文。在一些實施例中，本文所述之抗體之 CH₂ 域的 N 末端區中之胺基酸位置 231 至 238 內的一或多個胺基酸殘基經改變，由此更改抗體結合補體之能力，該等胺基酸位置根據 EU 編號系統來編號。此方法在國際公開案第

WO 94/29351 號中進一步描述，其全部以引用方式併入本文。在某些實施例中，修飾本文所述抗體之 Fc 區以便藉由使以下位置處之一或多個胺基酸(例如，引入胺基酸取代)突變來提高抗體介導抗體依賴性細胞毒性(ADCC)的能力及/或增加抗體對於 Fc γ 受體之親和力：238、239、248、249、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、301、303、305、307、309、312、315、320、322、324、326、327、328、329、330、331、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、434、435、437、438 或 439，該等位置根據 EU 編號系統來編號。此方法在國際公開案第 WO 00/42072 號中進一步描述，其全部以引用方式併入本文。

[0174] 在某些實施例中，本文所述之抗體包含 IgG₄ 抗體之恆定區並且根據 EU 編號系統來編號的重鏈之胺基酸殘基 228 處之絲胺酸由脯胺酸取代。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列的重鏈恆定區。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，該抗體包含含有 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列的重鏈恆定區。

[0175] 在某些實施例中，本文所述之恆定區突變或

修飾中之任一者可引入具有兩個重鏈恆定區的本文所述抗體之一個或兩個重鏈恆定區中。

[0176] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且充當拮抗劑之分離抗體。

[0177] 在某些實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，其特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且與在無任何抗體或有無關抗體(例如，不特異性結合至 TIM-3(例如人類 TIM-3)之抗體)下 TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性相比，使 TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性減小了至少 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%，如藉由本文描述及/或熟習此項技術者已知的方法來評估。在某些實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，其特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且與在無任何抗體或有無關抗體(例如，不特異性結合至 TIM-3(例如人類 TIM-3)之抗體)下的 TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性相比使 TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性降低了至少約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或 100 倍，如藉由本文描述及/或熟習此項技術者已知的方法來評估。TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性之非限制性實例可包括 TIM-3(例如，人類 TIM-3)

傳訊、TIM-3(例如，人類 TIM-3)與 TIM-3(例如，人類 TIM-3)配位體(例如，磷脂醯絲胺酸)的結合、以及細胞因子產生的抑制(例如，IFN- γ 及/或 TNF- α)。在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且去活化、降低或抑制 TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性之分離抗體。在具體實施例中，TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性之降低如以下實例中所描述來評估。

[0178] 在具體實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，其特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且與在無任何抗體或有無關抗體(例如，不特異性結合至 TIM-3(例如人類 TIM-3)之抗體)下的 TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性相比使 TIM-3(例如，人類 TIM-3)與其配位體(例如磷脂醯絲胺酸)的結合減少了至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%，如藉由本文描述(參見以下實例)及/或熟習此項技術者已知的方法來評估。在具體實施例中，本揭示案一種提供分離抗體，其特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且與在無任何抗體或有無關抗體(例如，不特異性結合至 TIM-3(例如人類 TIM-3)之抗體)下 TIM-3(例如，人類 TIM-3)與其配位體(例如，磷脂醯絲胺酸)的結合相比使 TIM-3(例如，人類 TIM-3)與其配位體(例如，磷脂醯絲胺酸)的結合減少了至少約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8

倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或 100 倍，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估。

[0179] 在具體實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，其特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且與在無任何抗體或有無關抗體(例如，不特異性結合至 TIM-3(例如人類 TIM-3)之抗體)下的細胞因子產生相比使細胞因子產生(例如，IFN- γ 及/或 TNF- α)增加了至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估。在具體實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，其特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且與在無任何抗體或有無關抗體(例如，不特異性結合至 TIM-3(例如人類 TIM-3)之抗體)下的細胞因子產生相比使細胞因子產生(例如，IFN- γ 及/或 TNF- α)增加了至少約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或 100 倍，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估。

[0180] 在具體實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，其特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且與在無任何抗體或有無關抗體(例如，不特異性結合至 TIM-

3(例如人類 TIM-3)之抗體)下的 IFN- γ 產生相比單獨或與抗-PD-1 抗體(例如，派姆單抗或妮威祿單抗)組合使響應於葡萄球菌屬腸毒素 A(SEA)刺激之人類末梢血單核細胞(PBMC)中的 IFN- γ 產生增加了至少約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或 100 倍，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估。

[0181] 在某些實施例中，與在無任何抗體或有無關抗體(例如，不特異性結合至 TIM-3(例如人類 TIM-3)之抗體)下僅用 SEA 刺激之 PBMC 相比，在特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)的本文所述之抗體存在下用葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之人類末梢血單核細胞(PBMC)使 IFN- γ 產生增加了至少約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或 100 倍，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估。

[0182] 在具體實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，其特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且與在無特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之抗體下的 IFN- γ 及/或 TNF α 產生相比單獨或與抗-PD-1 抗體(例如，派姆單抗或妮威祿單抗)組合使響應於抗 CD3 抗體及抗

CD28 抗體刺激之腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)中的 IFN- γ 及/或 TNF α 產生增加了至少約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或 100 倍，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估。在一實施例中，TIL 來自非小細胞肺癌(NSCLC)腫瘤。在另一實施例中，TIL 來自膽囊腺癌腫瘤。在另一實施例中，TIL 來自乳腺癌腫瘤。

[0183] 在某些實施例中，與在沒有特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之抗體下僅用抗 CD3 及抗 CD28 抗體刺激之 TIL 相比，在特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之本文所述抗體的存在下用抗 CD3 及抗 CD28 抗體刺激之腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)使 IFN- γ 及/或 TNF α 產生增加了至少約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或 100 倍，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估。在一實施例中，TIL 來自非小細胞肺癌(NSCLC)腫瘤。在另一實施例中，TIL 來自膽囊腺癌腫瘤。在另一實施例中，TIL 來自乳腺癌腫瘤。

[0184] 在某些實施例中，本揭示案提供一種分離抗體，該抗體特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且

在結合至表現 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之細胞後內化。在具體實施例中，至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%本文所述之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估。在某些實施例中，在包括以下步驟之檢定中，與在參考抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體存在下相比，在本文所述之抗體存在下，較低百分比之表現 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之細胞存活：

(a)在組織培養板中，以 2×10^4 個細胞/孔來塗佈表現 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之細胞；

(b)以 100 μ l/孔之最終體積添加相同濃度之 α HFc-NC-DM1 及本文所述之抗體或參考抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體(例如，1.5 ng/ml、4.6 ng/ml、13.7 ng/ml、41.2 ng/ml、123.5 ng/ml、370 ng/ml、1111 ng/ml 或 3333 ng/ml)。

(c)在 37°C 及 5% CO₂ 下培育 72 小時；

(d)量測表現 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之細胞之存活；以及

(e)相對於表現 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之未治療細胞，計算細胞存活之百分比。

在某些實施例中，與在參考抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體存在下之細胞存活百分比相比，在本文所述之

抗體存在下之細胞存活百分比低了至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%。在某些實施例中，與在參考抗-TIM-3(例如，人類TIM-3)抗體存在下之細胞存活百分比相比，在本文所述之抗體存在下之細胞存活百分比低了至少約 1.2 倍、1.3 倍、1.4 倍、1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍、3.5 倍、4 倍、4.5 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、10 倍、15 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或100 倍。在某些實施例中，參考抗-TIM-3(例如，人類TIM-3)抗體為 pab1944w(IgG₁ N297A)。在某些實施例中，參考抗-TIM-3(例如，人類TIM-3)抗體為 Hum11(IgG₄ S228P)。在某些實施例中，表現TIM-3(例如人類TIM-3)之細胞為 Kasumi-3 細胞。在某些實施例中，表現TIM-3(例如，人類TIM-3)之細胞為 Kasumi-3 細胞(ATCC® CRL-2725™)。在某些實施例中，表現TIM-3(例如，人類TIM-3)之細胞為經工程化以表現TIM-3(例如，人類TIM-3)之 Jurkat 細胞。

[0185] 在某些實施例中，在包括以下步驟之檢定中，相對於表現TIM-3(例如，人類TIM-3)之未治療細胞，至多50%表現TIM-3(例如，人類TIM-3)之細胞在本文所述之抗體存在下存活：

(a)在組織培養板中，以 2×10^4 個細胞/孔來塗佈表現TIM-3(例如，人類TIM-3)之細胞；

(b)以 100 μ l/孔之最終體積來添加相同濃度之 α HFc-NC-DM1 及本文所述之抗體(例如, 1.5 ng/ml、4.6 ng/ml、13.7 ng/ml、41.2 ng/ml、123.5 ng/ml、370 ng/ml、1111 ng/ml 或 3333 ng/ml);

(c)在 37°C 及 5% CO₂ 下培育 72 小時;

(d)量測表現 TIM-3(例如, 人類 TIM-3)之細胞之存活; 以及

(e)相對於表現 TIM-3(例如, 人類 TIM-3)之未治療細胞, 計算細胞存活之百分比。

在某些實施例中, 相對於表現 TIM-3(例如人類 TIM-3)之未治療細胞, 至多 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或 50%表現 TIM-3(例如人類 TIM-3)之細胞在本文所述之抗體存在下存活。在某些實施例中, α HFc-NC-DM1 及本文所述之抗體以 1111 ng/ml 之濃度添加並且相對於表現 TIM-3(例如人類 TIM-3)之未治療細胞, 至多 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或 50%表現 TIM-3(例如人類 TIM-3)之細胞在本文所述之抗體存在下存活。在某些實施例中, α HFc-NC-DM1 及本文所述之抗體以 1111 ng/ml 之濃度添加並且相對於表現 TIM-3(例如人類 TIM-3)之未治療細胞, 至多 50%表現 TIM-3(例如人類 TIM-3)之細胞在本文所述之抗體存在下存活。

[0186] 在某些實施例中, 本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如, 人類 TIM-3)之分離抗體, 其中至少

約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 $X_1X_2X_3X_4X_5S$ (SEQ ID NO: 48)之胺基酸序列的 CDRH1，其中

X_1 為 R、S、A、G、K、M 或 T，

X_2 為 Q、S、A、G、R 或 T，

X_3 為 N、Y、G 或 Q，

X_4 為 A 或 Q，且

X_5 為 W、M、A、S 或 T。

[0187] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 X_1X_2NAWS (SEQ ID NO: 49)之胺基酸序列的 CDRH1，其中

X_1 為 R 或 A；且

X_2 為 Q 或 R。

[0188] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性

結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 $X_1X_2GQX_3S$ (SEQ ID NO: 50)之胺基酸序列的 CDRH1，其中

X_1 為 K、M 或 G；

X_2 為 A 或 S；且

X_3 為 S 或 T。

[0189] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 X_1X_2QQAS (SEQ ID NO: 51)之胺基酸序列的 CDRH1，其中

X_1 為 S、R、T 或 G；且

X_2 為 A、S、T 或 G。

[0190] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少

約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 WVSAISGSGGSTY (SEQ ID NO: 2)之胺基酸序列的 CDRH2。

[0191] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 AKGGDYGGNYFD (SEQ ID NO: 3)之胺基酸序列的 CDRH3。

[0192] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 X₁ASQSVX₂SSYLA (SEQ ID NO: 52)之胺基酸

序列的 CDRL1，其中

X_1 為 R 或 G，且

X_2 不存在或為 S。

[0193] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 X_1ASX_2RAT (SEQ ID NO: 53)之胺基酸序列的 CDRL2，其中

X_1 為 D 或 G，且

X_2 為 N、S 或 T。

[0194] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體包含含有 $QQYGSSPX_1T$ (SEQ ID NO: 54)之胺基酸序列的 CDRL3，其中

X_1 為 L 或 I。

[0195] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中抗體與包含分別在以下各項中闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體交叉競爭結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)：SEQ ID NO: 24 及 36；24 及 38；26 及 42；24 及 42；24 及 46；24 及 43；26 及 43；26 及 46；26 及 41；24 及 41；25 及 39；24 及 47；25 及 40；26 及 47；25 及 37；25 及 45；25 及 44；25 及 46；25 及 42；25 及 41；25 及 43；25 及 47；27 及 46；28 及 46；29 及 46；30 及 46；31 及 46；32 及 46；33 及 46；34 及 46；或 35 及 46。

[0196] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中該抗體與本文所述之抗體，例如，與包含分別在以下各項中

闡明之重鏈及輕鏈可變區胺基酸序列的抗體結合至 TIM-3 之相同或重疊表位(例如，人類 TIM-3 之表位)：SEQ ID NO: 24 及 36；24 及 38；26 及 42；24 及 42；24 及 46；24 及 43；26 及 43；26 及 46；26 及 41；24 及 41；25 及 39；24 及 47；25 及 40；26 及 47；25 及 37；25 及 45；25 及 44；25 及 46；25 及 42；25 及 41；25 及 43；25 及 47；27 及 46；28 及 46；29 及 46；30 及 46；31 及 46；32 及 46；33 及 46；34 及 46；或 35 及 46。

[0197] 在某些實施例中，本揭示案提供一種特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之分離抗體，其中至少約 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或 99%之抗體在結合至表現 TIM-3 之細胞(例如，人類 TIM-3)後內化，如藉由本文描述(參見下文實例)或熟習此項技術者已知的方法來評估，並且其中該抗體包含作為野生型人類 IgG 重鏈恆定區之變異體的人類 IgG 重鏈恆定區，其中與野生型人類 IgG 重鏈恆定區結合至人類 Fc γ 受體相比，變異的人類 IgG 重鏈恆定區以較低親和力結合至人類 Fc γ 受體。在某些實施例中，人類 Fc γ 受體選自由以下組成之群：Fc γ RI、Fc γ RII 及 Fc γ RIII。在某些實施例中，變異的人類 IgG 重鏈恆定區為包含 N297A 突變之 IgG₁ 恆定區，該突變根據 EU 編號系統來編號。

5.3 醫藥組合物

[0198] 本文提供組合物，其包含在生理上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑中的具有所需純度之本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體(Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA)。可接受之載劑、賦形劑或穩定劑在所採用之劑量及濃度下對接受者無毒性，且包括緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑（諸如十八烷基二甲基苄基氯化銨、氯化六氫季銨（hexamethonium chloride）、氯化苄二甲羥銨（benzalkonium chloride）、氯化苄甲乙氧銨（benzethonium chloride）、苯酚、丁醇或苄醇、對羥苯甲酸烷酯（諸如對羥苯甲酸甲酯或丙酯）、兒茶酚、間苯二酚、環己醇、3-戊醇、及間-甲酚）；低分子量（小於約 10 個殘基）多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、凝膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烷基吡咯啉酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如 EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成鹽相對離子，諸如鈉離子；金屬複合物（例如 Zn-蛋白質複合物）；及/或非離子介面活性劑，諸如 TWEEN™、PLURONICS™或聚乙二醇（PEG）。

[0199] 在一具體實施例中，醫藥組合物包含在醫藥學上可接受之載劑中的本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體及視情況一或多種額外預防或治療劑。在一具

體實施例中，醫藥組合物包含在醫藥學上可接受之載劑中的有效量之本文所述抗體及視情況一或多種額外預防或治療劑。在一些實施例中，抗體為包括在醫藥組合物中之唯一活性成分。本文所述之醫藥組合物可適用於抑制 TIM-3(例如，人類 TIM-3)活性並且治療病狀，諸如癌症或感染性疾病。在一實施例中，本發明係關於一種包含本發明之抗-TIM-3 抗體的本發明之醫藥組合物，該組合物係用作藥劑。在另一實施例中，本發明係關於在治療癌症或感染性疾病之方法中使用的本發明之醫藥組合物。在另一實施例中，本發明係關於本發明之醫藥組合物用於製備供治療癌症或感染性疾病用之藥劑的用途。

[0200] 用於非經腸製劑中之醫藥學上可接受之載劑包括水性媒劑、非水性媒劑、抗微生物劑、等滲劑、緩衝劑、抗氧化劑、局部麻醉劑、懸浮及分散劑、乳化劑、螯合或鉗合劑及其他醫藥學上可接受之物質。水性媒劑之實例包括氯化鈉注射液、林格氏注射液、等滲葡萄糖注射液、無菌水注射液、葡萄糖及乳酸鹽林格氏注射液。非水性非經腸媒劑包括植物來源之不揮發性油、棉籽油、玉米油、芝麻油及花生油。細菌抑制或真菌抑制濃度下之抗微生物劑可添加至在多劑量容器中封裝之非經腸製劑中，該等製劑包括苯酚或甲酚、汞劑、苯甲醇、氯代丁醇、對羥基苯甲酸甲酯及對羥基苯甲酸丙酯、乙汞硫柳酸鈉、苯紫氯銨及苳索氯銨。等滲劑包括氯化鈉及葡萄糖。緩衝劑包括磷酸鹽及檸檬酸鹽。抗氧化劑包括硫酸氫鈉。局部麻醉

劑包括鹽酸普魯卡因。懸浮及分散劑包括羧甲基纖維素鈉、羥基丙基甲基纖維素及聚乙烯吡咯啉酮。乳化劑包括聚山梨醇酯 80(TWEEN[®] 80)。金屬離子之螯合或鉗合劑包括 EDTA。醫藥載劑亦包括用於水溶性媒劑之乙醇、聚乙二醇及丙二醇；及用於 pH 值調節之氫氧化鈉、鹽酸、檸檬酸或乳酸。

[0201] 醫藥組合物可經配製成以任何投藥途徑來向受試者投與。投藥途徑之具體實例包括鼻內、經口、肺部、經皮、皮內及非經腸。在本文中亦涵蓋藉由皮下、肌肉內或靜脈內注射來表徵之非經腸投藥。可注射劑可以習知形式來製備，作為液體溶液或懸浮液、適於在注射之前溶解或懸浮在液體中之固體形式、或作為乳液。可注射劑、溶液及乳液亦含有一或多種賦形劑。合適的賦形劑為例如水、鹽水、葡萄糖、甘油或乙醇。另外，若需要，則有待投與之醫藥組合物亦可含有少量無毒輔助物質，諸如潤濕或乳化劑、pH 緩衝劑、穩定劑、溶解性增強劑及其他此類試劑，例如乙酸鈉、山梨糖醇單月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯及環糊精。

[0202] 用於非經腸投與抗體之製劑包括準備注射用之無菌溶液；準備恰好在使用之前與溶劑組合之無菌乾燥可溶性產品，諸如凍乾粉末，包括皮下錠劑；準備注射用之無菌懸浮液；準備恰好在使用之前與媒劑組合之無菌乾燥不溶性產品及無菌乳液。溶液可為水性或非水性的。

[0203] 若靜脈內投與，則合適的載劑包括生理鹽水

或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)，及含有增稠及溶解劑之溶液，諸如葡萄糖、聚乙二醇及聚丙二醇及其混合物。

[0204] 包含抗體之外用混合物係如對於局部及全身投與所描述來製備。所得混合物可為溶液、懸浮液、乳液或其類似物並且可經配製為乳霜、凝膠、軟膏、乳液、溶液、酏劑、洗劑、懸浮液、酊劑、糊劑、發泡劑、氣溶膠、沖洗液、噴霧劑、栓劑、繃帶、皮膚貼片或適於表面投與之任何其他調配物。

[0205] 本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體可經配製為諸如藉由吸入來表面施用之氣溶膠(參見，例如，美國專利第 4,044,126 號、第 4,414,209 號及第 4,364,923 號，其描述用於遞送適用於治療炎症疾病，尤其哮喘之類固醇的氣溶膠並且全部以引用方式併入本文)。用於投與呼吸道之此等調配物可呈氣溶膠或霧化器之溶液形式，或呈用於吹入之超細粉末形式，單獨或與惰性載劑諸如乳糖組合。在此情況下，在一實施例中，調配物之顆粒具有小於 50 微米之直徑，在一實施例中小於 10 微米。

[0206] 本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體可經配製成用於局部或表面施用，諸如以凝膠、乳霜及洗劑形式來局部施用至皮膚及諸如眼睛中之黏膜，並且用於施用至眼睛或腦池內或脊椎內施用。表面投與預期用於經皮遞送以及向眼睛或黏膜投與，或用於吸入療法。亦可投與單獨或與其他醫藥學上可接受之賦形劑組合的抗體之經

鼻溶液。

[0207] 經皮貼片，包括離子導入及電泳裝置係熟習此項技術者熟知的，並且可用於投與抗體。舉例而言，此類貼片在美國專利第 6,267,983 號、第 6,261,595 號、第 6,256,533 號、第 6,167,301 號、第 6,024,975 號、第 6,010,715 號、第 5,985,317 號、第 5,983,134 號、第 5,948,433 號及第 5,860,957 號中揭示，其全部以引用方式併入本文。

[0208] 在某些實施例中，包含本文所述抗體之醫藥組合物為凍乾粉末，其可經重構以便以溶液、乳液及其他混合物形式來投與。其亦可經重構並配製成固體或凝膠。凍乾粉末藉由將本文所述之抗體或其醫藥學上可接受之衍生物溶解於合適的溶劑中來製備。在一些實施例中，凍乾粉末為無菌的。溶劑可含有賦形劑，該賦形劑改良粉末或由粉末製備之重構溶液之穩定性或其他藥理學成分。可使用之賦形劑包括但不限於右旋糖、山梨糖醇、果糖、玉米糖漿、木糖醇、甘油、葡萄糖、蔗糖或其他合適的試劑。溶劑亦可含有緩衝劑，諸如檸檬酸鹽、磷酸鈉或磷酸鉀或為熟習此項技術者已知的其他此類緩衝劑，在一實施例中，在約中性 pH 下。隨後對溶液進行無菌過濾，繼之在為熟習此項技術者已知的標準條件下進行凍乾提供所需調配物。在一實施例中，將所得溶液分配至小瓶中以便凍乾。每個小瓶含有單一劑量或多個劑量之化合物。凍乾粉末可儲存在合適條件，諸如約 4°C 至室溫下。以注射用水來重構此凍乾粉末提供用於非經腸投與之調配物。為了重

構，將凍乾粉末添加至無菌水或其他合適的載劑中。精確量視所選擇的化合物而定。此量可在經驗上判定。

[0209] 本文描述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體及本文提供之其他組合物亦可經配製以靶向有待治療之受試者之身體的特定組織、受體或其他區域。許多此類靶向方法為熟習此項技術者熟知。所有此類靶向方法在本文中預期用於本發明組合物中。關於靶向方法之非限制性實例，參見例如美國專利第 6,316,652 號、6,274,552 號、第 6,271,359 號、第 6,253,872 號、第 6,139,865 號、第 6,131,570 號、第 6,120,751 號、第 6,071,495 號、第 6,060,082 號、第 6,048,736 號、第 6,039,975 號、第 6,004,534 號、第 5,985,307 號、第 5,972,366 號、第 5,900,252 號、第 5,840,674 號、第 5,759,542 號及第 5,709,874 號，其全部以引用方式併入本文。在一具體實施例中，本文所述之抗體靶向腫瘤。

[0210] 有待用於活體內投藥之組合物可為無菌的。此可藉由經例如無菌過濾膜過濾來輕易達成。

5.4 使用方法及用途

[0211] 在另一態樣中，本揭示案提供一種使用本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體來治療受試者之方法。受試者中將受益於 TIM-3(例如，人類 TIM-3)功能之抑制的任何疾病或病症可使用本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體來治療。本文揭示之抗-TIM-3(例

如，人類 TIM-3)抗體尤其適用於抑制腫瘤之免疫系統耐受性，且因此可用作患有癌症之受試者之免疫療法。舉例而言，在某些實施例中，本揭示案提供一種增強受試者中響應於抗原之 T 細胞活化的方法，該方法包括向受試者投與有效量的如本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其醫藥組合物。在某些實施例中，本揭示案提供一種治療受試者之癌症的方法，該方法包括向受試者投與有效量之如本文揭示之抗體或醫藥組合物。在某些實施例中，本揭示案提供一種如本文揭示之抗體或醫藥組合物，其係用於治療癌症或感染性疾病之方法中。在某些實施例中，本揭示案提供一種如本文揭示之抗體或醫藥組合物，其係用作藥劑。在另一實施例中，本揭示案提供一種如本文揭示之抗體或醫藥組合物用於製備供治療癌症或感染性疾病用之藥劑的用途。

[0212] 可用本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或醫藥組合物治療之癌症包括但不限於實體腫瘤、血液癌症(例如，白血病、淋巴瘤、骨髓瘤，例如多發性骨髓瘤)及轉移性病變。在一實施例中，癌症為實體腫瘤。實體腫瘤之實例包括惡性腫瘤，例如，肉瘤及癌，例如，各種器官系統之腺癌，諸如累及肺、乳腺、卵巢、淋巴、胃腸(例如，結腸)、肛門、生殖器及生殖泌尿道(例如，腎、尿道上皮、膀胱細胞、前列腺)、咽喉、CNS(例如，大腦、神經或神經膠質細胞)、頭及頸、皮膚(例如，黑素瘤)及胰腺的癌；以及腺癌，包括惡性腫瘤，諸如結腸

癌、直腸癌、腎細胞癌、肝癌、肺癌(例如，非小細胞肺癌或小細胞肺癌)、小腸癌及食道癌。癌症可為早期、中期、晚期或轉移性癌。在某些實施例中，癌症與升高的PD-1 活性(例如，升高的 PD-1 表現)相關聯。

[0213] 在一實施例中，癌症選自肺癌(例如，肺腺癌或非小細胞肺癌(NSCLC)(例如，具有鱗狀及/或非鱗狀組織學之 NSCLC，或 NSCLC 腺癌))、黑素瘤(例如，晚期黑素瘤)、腎癌(例如，腎細胞癌)、肝癌(例如，肝細胞癌)、骨髓瘤(例如，多發性骨髓瘤)、前列腺癌、乳腺癌(例如，不表現雌激素受體、孕酮受體或 Her2/neu 中之一者、兩者或所有的乳腺癌，例如，三陰性乳腺癌)、卵巢癌、結直腸癌、胰腺癌、頭及頸癌(例如，頭及頸鱗狀細胞癌(HNSCC)、肛門癌、胃-食道癌(例如，食道鱗狀細胞癌)、間皮瘤、鼻咽癌、甲狀腺癌、宮頸癌、上皮癌、腹膜癌或淋巴增生性疾病(例如，移植後淋巴增生性疾病)。在一實施例中，癌症為 NSCLC。在一實施例中，癌症為腎細胞癌。在一實施例中，癌症為卵巢癌。在一具體實施例中，卵巢癌為鉑難治性卵巢癌。

[0214] 在一實施例中，癌症為血液癌症，例如，白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一實施例中，癌症為白血病，例如，急性淋巴母細胞白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、急性骨髓母細胞性白血病(AML)、慢性淋巴細胞白血病(CLL)、慢性骨髓性白血病(CML)、慢性骨髓白血病(CML)、慢性髓單核球性白血病(CMML)、慢性淋巴細

胞白血病(CLL)或毛細胞白血病。在一實施例中，癌症為淋巴瘤，例如，B 細胞淋巴瘤、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)、活化的 B-細胞樣(ABC)彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、胚芽中心 B 細胞(GCB)彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、何傑金淋巴瘤、非何傑金淋巴瘤、復發性非何傑金淋巴瘤、難治性非何傑金淋巴瘤、再發濾泡性非何傑金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、小淋巴細胞淋巴瘤、濾泡淋巴瘤、淋巴漿細胞性淋巴瘤或結外邊緣帶淋巴瘤。在一實施例中，癌症為骨髓瘤，例如，多發性骨髓瘤。

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

[0216] 在一實施例中，癌症為肺癌，例如，肺腺癌、非小細胞肺癌或小細胞肺癌。

[0217] 在一實施例中，癌症為黑素瘤，例如，晚期黑素瘤。在一實施例中，癌症為對於其他療法無反應的晚期或不可切除的黑素瘤。在其他實施例中，癌症為具有 BRAF 突變(例如，BRAF V600 突變)之黑素瘤。在其他實施例中，本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或醫藥組合物在使用或不使用 BRAF 抑制劑(例如，威羅菲尼或達拉菲尼)的情況下用抗-CTLA-4 抗體(例如，伊匹珠單抗)治療之後投與。

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

[0219] 在另一實施例中，癌症為前列腺癌，例如，晚期前列腺癌。

[0220] 在另一實施例中，癌症為骨髓瘤，例如，多發性骨髓瘤。

[0221] 在另一實施例中，癌症為腎癌，例如，腎細胞癌(RCC)(例如，轉移性 RCC、透明細胞腎細胞癌(CCRCC)或腎乳突細胞癌)。

[0222] 在另一實施例中，癌症選自肺癌、黑素瘤、腎癌、乳腺癌、結直腸癌、白血病或癌症之轉移性病變。

[0223] 在某些實施例中，本揭示案提供一種預防或治療受試者之感染性疾病之方法，該方法包括向受試者投與有效量的如本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其醫藥組合物。在一實施例中，本文提供預防及/或治療感染(例如，病毒感染、細菌感染、真菌感染、原蟲感染或寄生蟲感染)之方法。根據該等方法預防及/或治療之感染可由本文識別之傳染媒介物引起。在一具體實施例中，本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其組合物為向受試者投與之唯一活性劑。在一些實施例中，本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其組合物與用於治療感染性疾病之抗感染干預(例如，抗病毒藥、抗細菌藥、抗真菌藥或抗腸蟲藥)組合使用。因此，在一實施例中，本發明係關於本發明之抗體及/或醫藥組合物，其係用於預防及/或治療感染性疾病之方法中，視情況其中抗體或醫藥組合物為向受試者投與之唯一活性劑，或其

中抗體或醫藥組合物與抗感染干預組合使用。

[0224] 可藉由本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或醫藥組合物治療及/或預防之感染性疾病由包括但不限於細菌、寄生蟲、真菌、原蟲及病毒之傳染媒介物引起。在一具體實施例中，藉由本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或醫藥組合物治療及/或預防之感染性疾病由病毒引起。可根據本文描述之方法來預防及/或治療的病毒疾病或病毒感染包括但不限於由以下引起之疾病或感染：A 型肝炎、B 型肝炎、C 型肝炎、流感(例如，A 型流感或 B 型流感)、水痘、腺病毒、單純性皰疹 I 型(HSV-I)、單純性皰疹 II 型(HSV-II)、牛瘟、鼻病毒、艾柯病毒、輪狀病毒、呼吸道融合細胞病毒、乳突狀瘤病毒、乳突多瘤空泡病毒、巨細胞病毒、棘球條蟲病毒、節肢足動物攜帶性病毒、漢坦病毒、柯薩奇病毒、流行性腮腺炎病毒、麻疹病毒、風疹病毒、脊髓灰質炎病毒、痘疹、埃-巴二氏病毒、人類免疫缺陷病毒 I 型(HIV-I)、人類免疫缺陷病毒 II 型(HIV-II)，以及病毒性疾病諸如病毒腦膜炎、腦炎、登革熱或痘疹之媒介物。

[0225] 可預防及/或治療之細菌感染包括由以下引起之感染：大腸桿菌、肺炎克雷伯桿菌、金黃色葡萄球菌、糞腸球菌、普通變形桿菌、草綠色葡萄球菌及銅綠假單胞菌。可根據本文描述之方法來預防及/或治療的由細菌(例如，大腸桿菌、肺炎克雷伯桿菌、金黃色葡萄球菌、糞腸球菌、普通變形桿菌、草綠色葡萄球菌及銅綠假單胞菌)

引起之細菌性疾病包括但不限於分枝桿菌立克次體、支原體、奈瑟氏球菌、肺炎鏈球菌、勃氏疏螺旋體（萊姆病）、炭疽芽孢桿菌（炭疽）、破傷風、鏈球菌、葡萄球菌、分枝桿菌、百日咳、霍亂、瘟疫、白喉、衣原體、金黃色葡萄球菌及軍團菌。

[0226] 可根據本文描述之方法預防及/或治療的由原蟲引起之原蟲疾病或原蟲感染包括但不限於利什曼原蟲、球蟲病、錐蟲屬血吸蟲或瘧疾。可根據本文描述之方法預防及/或治療的由寄生蟲引起之寄生蟲疾病或寄生蟲感染包括但不限於衣原體及立克次體。

[0227] 可根據本文描述之方法預防及/或治療的真菌疾病或真菌感染包括但不限於由以下引起之疾病或感染：念珠菌感染、接合菌病、念珠菌乳腺炎、伴有潛伏的毛芽胞菌血症之進行性播散性毛芽胞菌病、播散性念珠菌病、肺副球黴菌病、肺曲黴菌病、卡氏肺囊蟲肺炎、隱球菌性腦膜炎、球蟲性腦膜腦炎及腦脊髓血管炎、黑曲黴菌感染、鐮孢角膜炎、鼻旁竇真菌病、菸麴黴心內膜炎、脛骨軟骨發育不全、光滑念珠菌陰道炎、口咽念珠菌病、X連鎖慢性肉芽腫病、足癬、皮膚念珠菌病、黴菌性胎盤炎、播散性毛芽胞菌病、過敏性支氣管肺麴黴病、黴菌性角膜炎、新型隱球菌感染、真菌腹膜炎、膝曲彎孢菌感染、葡萄球菌眼內炎、孢子絲菌病以及皮膚癬菌病。

[0228] 在某些實施例中，此等方法進一步包括向受試者投與另一治療劑。在某些實施例中，額外治療劑為化

學治療劑、放射治療劑或檢查點靶向劑。在某些實施例中，化學治療劑為低甲基化劑(例如，阿紫胞苷)。在某些實施例中，檢查點靶向劑選自由以下組成之群：拮抗劑抗-CTLA-4 抗體、拮抗劑抗-PD-L1 抗體、拮抗劑抗-PD-L2 抗體、拮抗劑抗-PD-1 抗體、拮抗劑抗-TIM-3 抗體、拮抗劑抗-LAG-3 抗體、拮抗劑抗-CEACAM1 抗體、促效劑抗-CD137 抗體、拮抗劑抗-TIGIT 抗體、拮抗劑抗-VISTA 抗體、促效劑抗-GITR 抗體及促效劑抗-OX40 抗體。

[0229] 在一實施例中，本發明係關於一種在本發明之方法中使用的本發明之抗體及/或醫藥組合物，其中該方法進一步包括向受試者投與另一治療劑。在一實施例中，本發明係關於(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物以及(b)另一治療劑，其係用作藥劑。在一實施例中，本發明係關於(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物以及(b)另一治療劑，其係用於治療癌症之方法中。在另一實施例中，本發明係關於一種醫藥組合物、套組或部件套組，其包含(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物以及(b)另一治療劑。在一實施例中，該另一治療劑為化學治療劑、放射治療劑或檢查點靶向劑。

[0230] 在某些實施例中，抗-PD-1 抗體在本文揭示之方法中使用。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為妮威祿單抗，亦稱為 BMS-936558 或 MDX1106，其係由 Bristol-Myers Squibb 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為派姆單抗，亦稱為 lambrolizumab 或 MK-3475，其係由

Merck & Co 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為皮地利珠單抗，亦稱為 CT-011，其係由 CureTech 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為 MEDI0680，亦稱為 AMP-514，其係由 Medimmune 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為 PDR001，其係由 Novartis Pharmaceuticals 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為 REGN2810，其係由 Regeneron Pharmaceuticals 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為 PF-06801591，其係由 Pfizer 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為 BGB-A317，其係由 BeiGene 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為 TSR-042，其係由 AnaptysBio 及 Tesaro 開發。在某些實施例中，抗-PD-1 抗體為 SHR-1210，其係由 Hengrui 開發。

[0231] 可用於本文揭示之治療方法中的抗-PD-1 抗體之其他非限制性實例在以下專利及專利申請案中揭示，其出於所有目的全部以引用方式併入本文：美國專利第 6,808,710 號；美國專利第 7,332,582 號；美國專利第 7,488,802 號；美國專利第 8,008,449 號；美國專利第 8,114,845 號；美國專利第 8,168,757 號；美國專利第 8,354,509 號；美國專利第 8,686,119 號；美國專利第 8,735,553 號；美國專利第 8,747,847 號；美國專利第 8,779,105 號；美國專利第 8,927,697 號；美國專利第 8,993,731 號；美國專利第 9,102,727 號；美國專利第 9,205,148 號；美國公開案第 US 2013/0202623 A1 號；美國公開案第 US 2013/0291136 A1 號；美國公開案第 US

2014/0044738 A1 號；美國公開案第 US 2014/0356363 A1 號；美國公開案第 US 2016/0075783 A1 號；及 PCT 公開案第 WO 2013/033091 A1 號；PCT 公開案第 WO 2015/036394 A1 號；PCT 公開案第 WO 2014/179664 A2 號；PCT 公開案第 WO 2014/209804 A1 號；PCT 公開案第 WO 2014/206107 A1 號；PCT 公開案第 WO 2015/058573 A1 號；PCT 公開案第 WO 2015/085847 A1 號；PCT 公開案第 WO 2015/200119 A1 號；PCT 公開案第 WO 2016/015685 A1 號；及 PCT 公開案第 WO 2016/020856 A1 號。

[0232] 在某些實施例中，抗-PD-L1 抗體在本文揭示之方法中使用。在某些實施例中，抗-PD-L1 抗體為阿特立單抗，其係由 Genentech 開發。在某些實施例中，抗-PD-L1 抗體為 durvalumab，其係由 AstraZeneca、Celgene 及 Medimmune 開發。在某些實施例中，抗-PD-L1 抗體為 avelumab，亦稱為 MSB0010718C，其係由 Merck Serono 及 Pfizer 開發。在某些實施例中，抗-PD-L1 抗體為 MDX-1105，其係由 Bristol-Myers Squibb 開發。在某些實施例中，抗-PD-L1 抗體為 AMP-224，其係由 Amplimmune 及 GSK 開發。

[0233] 可用於本文揭示之治療方法中的抗-PD-L1 抗體之非限制性實例在以下專利及專利申請案中揭示，其出於所有目的全部以引用方式併入本文：美國專利第 7,943,743 號；美國專利第 8,168,179 號；美國專利第

8,217,149 號；美國專利第 8,552,154 號；美國專利第 8,779,108 號；美國專利第 8,981,063 號；美國專利第 9,175,082 號；美國公開案第 US 2010/0203056 A1 號；美國公開案第 US 2003/0232323 A1 號；美國公開案第 US 2013/0323249 A1 號；美國公開案第 US 2014/0341917 A1 號；美國公開案第 US 2014/0044738 A1 號；美國公開案第 US 2015/0203580 A1 號；美國公開案第 US 2015/0225483 A1 號；美國公開案第 US 2015/0346208 A1 號；美國公開案第 US 2015/0355184 A1 號；及 PCT 公開案第 WO 2014/100079 A1 號；PCT 公開案第 WO 2014/022758 A1 號；PCT 公開案第 WO 2014/055897 A2 號；PCT 公開案第 WO 2015/061668 A1 號；PCT 公開案第 WO 2015/109124 A1 號；PCT 公開案第 WO 2015/195163 A1 號；PCT 公開案第 WO 2016/000619 A1 號；及 PCT 公開案第 WO 2016/030350 A1 號。

[0234] 在某些實施例中，本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體與靶向免疫調節酶諸如 IDO(吲哚胺-(2,3)-雙加氧酶)及/或 TDO(色胺酸 2,3-雙加氧酶)之化合物組合向受試者投與。因此，在一實施例中，額外治療劑為靶向免疫調節酶之化合物，諸如吲哚胺-(2,3)-雙加氧酶(IDO)之抑制劑。在某些實施例中，此類化合物選自由以下組成之群：epacadostat(Incyte Corp；參見，例如，WO 2010/005958，其全部以引用方式併入本文)、F001287 (Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb)、indoximod

(NewLink Genetics)及 NLG919(NewLink Genetics)。在一實施例中，化合物為 epacadostat。在另一實施例中，化合物為 F001287。在另一實施例中，化合物為 indoximod。在另一實施例中，化合物為 NLG919。在一具體實施例中，本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體與治療癌症之 IDO 抑制劑組合向受試者投與。如本文描述用於治療癌症之 IDO 抑制劑以諸如錠劑、丸劑或膠囊劑之醫藥組合物的固體劑型存在，其中醫藥組合物包含 IDO 抑制劑及醫藥學上可接受之賦形劑。因此，如本文描述之抗體及如本文描述之 IDO 抑制劑可作為獨立劑型來單獨地、依序或同時投與。在一實施例中，非經腸投與抗體，並且經口投與 IDO 抑制劑。在具體實施例中，抑制劑選自由以下組成之群：epacadostat(Incyte Corporation)、F001287(Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb)、indoximod(NewLink Genetics)及 NLG919(NewLink Genetics)。Epacadostat 在 PCT 公開案第 WO 2010/005958 號中描述，其出於所有目的全部以引用方式併入本文。在一實施例中，抑制劑為 epacadostat。在另一實施例中，抑制劑為 F001287。在另一實施例中，抑制劑為 indoximod。在另一實施例中，抑制劑為 NLG919。

[0235] 在某些實施例中，本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體與疫苗組合向受試者投與。疫苗可為例如肽疫苗、DNA 疫苗或 RNA 疫苗。在某些實施例中，疫苗為基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗或基於熱休克蛋白

之病原體疫苗。在某些實施例中，本文揭示之抗-TIM-3 (例如，人類 TIM-3)抗體與如 WO 2016/183486(其全部以引用方式併入本文)所描述之疫苗(例如，包含含有癌症特異性突變之至少一種合成肽的疫苗，該癌症特異性突變存在於受試者之癌症中)組合向受試者投與。在一具體實施例中，本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體與基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗組合向受試者投與。熱休克蛋白(HSP)為廣泛見於所有物種中之高度保守的蛋白質家族。其表現可由於熱休克或其他形式之應力，包括暴露於毒素、氧化應力或葡萄糖缺乏而強力地誘導至高得多的水準。五個家族已根據分子量來分類：HSP-110、-90、-70、-60及-28。HSP經由諸如巨噬細胞及樹突狀細胞(DC)之抗原呈現細胞(APC)中之交叉呈現途徑來遞送免疫原性肽，從而造成T細胞活化。HSP充當腫瘤相關抗原肽之伴護載體，由此形成能夠誘導腫瘤特異性免疫力之複合物。一旦由垂死的腫瘤細胞中釋放，HSP-抗原複合物便被抗原呈現細胞(APC)接納，其中該等抗原被加工成肽，該等肽結合MHC I類及II類分子，從而導致抗腫瘤CD8+及CD4+T細胞之活化。由源自腫瘤製劑之HSP複合物引起的免疫力特異性地針對由每個受試者之癌症所表現的獨特抗原肽譜系。因此，在一實施例中，本發明係關於(a)本發明之抗體及/或醫藥組合物以及(b)疫苗，其係在例如治療癌症之方法中用作藥劑。在一實施例中，本發明係關於一種醫藥組合物、套組或部件套組，其包含(a)本發明之抗

體及/或醫藥組合物以及(b)疫苗。在一實施例中，疫苗為基於熱休克蛋白之腫瘤疫苗。在一實施例中，疫苗為基於熱休克蛋白之病原體疫苗。

[0236] 熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)為蛋白質肽複合物，該複合物係由與抗原肽非共價複合之熱休克蛋白組成。HSPPC 引出先天性及適應性免疫反應兩者。在一具體實施例中，抗原肽顯示針對所治療癌症之抗原性。HSPPC 經由膜受體(主要 CD91)或藉由結合至 Toll 樣受體而有效地被 APC 獲取。HSPPC 內化造成 APC 之功能性成熟以及趨化因子及細胞因子產生，從而導致自然殺傷細胞(NK)、單核細胞之活化以及 Th1 及 Th-2 介導之免疫反應。在某些實施例中，用於本文揭示之方法中的 HSPPC 包含來自應力蛋白之 hsp60、hsp70 或 hsp90 家族之一或多種熱休克蛋白，該等熱休克蛋白與抗原肽複合。在某些實施例中，HSPPC 包含 hsc70、hsp70、hsp90、hsp110、grp170、gp96、鈣網蛋白或其兩者或兩者以上之組合。

[0237] 在一具體實施例中，熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)包含與重組抗原肽複合之重組熱休克蛋白(例如，hsp70 或 hsc70)或其肽結合域。重組熱休克蛋白可例如使用如 Dworniczak 及 Mirault, *Nucleic Acids Res.* 15:5181-5197 (1987)及 GenBank 登錄號 P11142 及/或 Y00371 所述之人類 hsc70 序列，藉由重組 DNA 技術而產生，其各自全部以引用方式併入本文。在某些實施例中，Hsp70 序列如 Hunt 及 Morimoto *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82 (19),

6455-6459 (1985) 及 GenBank 登錄號 P0DMV8 及 / 或 M11717 所述，其各自全部以引用方式併入本文。抗原肽亦可藉由此項技術中已知之重組 DNA 方法來製備。

[0238] 在某些實施例中，抗原肽包含經修飾之胺基酸。在某些實施例中，經修飾之胺基酸包含轉譯後修飾。在某些實施例中，經修飾之胺基酸包含轉譯後修飾之模擬物。在某些實施例中，經修飾之胺基酸為 Tyr、Ser、Thr、Arg、Lys 或 His，其在側鏈羥基或胺上經磷酸化。在某些實施例中，經修飾之胺基酸為 Tyr、Ser、Thr、Arg、Lys 或 His 胺基酸之模擬物，其在側鏈羥基或胺上經磷酸化。

[0239] 在一具體實施例中，本文揭示之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體與熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)例如熱休克蛋白肽複合物-96(HSPPC-96)組合向受試者投與來治療癌症。HSPPC-96 包含與抗原肽複合之 96 kDa 熱休克蛋白(Hsp)，gp96。HSPPC-96 為由受試者之腫瘤製得之癌症免疫治療劑並且含有癌症之抗原性「指紋」。在某些實施例中，此指紋含有僅存在於特定受試者之特定癌細胞中之獨特抗原並且注射該疫苗意欲刺激受試者之免疫系統識別並攻擊具有特定癌症指紋之任何細胞。因此，在一實施例中，本發明係關於與熱休克蛋白肽複合物(HSPPC)組合之本發明之抗體及/或醫藥組合物，其係用作藥劑且/或用於治療癌症之方法中。

[0240] 在某些實施例中，HSPPC，例如 HSPPC-96 係

由受試者之腫瘤組織中產生。在一具體實施例中，HSPPC(例如，HSPPC-96)由所治療之類型的癌症或其轉移灶之腫瘤中產生。在另一具體實施例中，HSPPC(例如，HSPPC-96)對於所治療之受試者而言為自體的。在某些實施例中，腫瘤組織為非壞死腫瘤組織。在某些實施例中，至少 1 克(例如，至少 1、至少 2、至少 3、至少 4、至少 5、至少 6、至少 7、至少 8、至少 9 或至少 10 克)非壞死腫瘤組織用於產生疫苗方案。在某些實施例中，在手術切除之後，非壞死腫瘤組織在用於疫苗製備之前予以冷凍。在一些實施例中，HSPPC，例如 HSPPC-96 藉由純化技術由腫瘤組織中分離，過濾並且製備成可注射疫苗。在某些實施例中，向受試者投與 6-12 個劑量之 HSPPC，例如，HSPCC-96。在此等實施例中，HSPPC，例如 HSPPC-96 劑量對於頭 4 個劑量可每週投與一次，接著對於 2-8 個額外劑量可每兩週投與一次。

[0241] 可根據本文描述之方法使用之 HSPPC 之其他實例在以下專利及專利申請案中揭示，其全部以引用方式併入本文：美國專利第 6,391,306 號、第 6,383,492 號、第 6,403,095 號、第 6,410,026 號、第 6,436,404 號、第 6,447,780 號、第 6,447,781 號及第 6,610,659 號。

[0242] 在某些實施例中，本文揭示之抗-TIM-3 抗體與佐劑組合向受試者投與。各種佐劑可視治療情況而使用。合適佐劑之非限制性實例包括但不限於完全弗氏佐劑(CFA)、不完全弗氏佐劑(IFA)、montanide ISA(不完全

Seppic 佐劑)、Ribi 佐劑系統(RAS)、Titer Max、胞壁醯基肽、Syntex 佐劑調配物(SAF)、明礬(氫氧化鋁及/或磷酸鋁)、鋁鹽佐劑、Gerbu[®]佐劑、硝化纖維素吸收抗原、囊封或包埋抗原、3 De-O-醯化單磷醯脂質 A(3 D-MPL)、免疫刺激寡核苷酸、toll 樣受體(TLR)配位體、甘露聚糖結合凝集素(MBL)配位體、STING 促效劑、免疫刺激複合物諸如皂角苷、Quil A、QS-21、QS-7、ISCOMATRIX 及其他。其他佐劑包括 CpG 寡核苷酸及雙鏈 RNA 分子，諸如聚(A)及聚(U)。亦可使用以上佐劑之組合。參見，例如美國專利第 6,645,495 號；第 7,029,678 號；及第 7,858,589 號，其全部以引用方式併入本文。在一實施例中，本文使用之佐劑為 QS-21 STIMULON。

[0243] 在某些實施例中，本文揭示之抗-TIM-3 抗體與包含 TCR 之額外治療劑組合向受試者投與。在某些實施例中，額外治療劑為可溶性 TCR。在某些實施例中，額外治療劑為表現 TCR 之細胞。因此，在一實施例中，本發明係關於與包含 TCR 之額外治療劑組合的本發明之抗體及/或醫藥組合物，其係用作藥劑及/或用於治療癌症之方法中。

[0244] 在某些實施例中，本文揭示之抗-TIM-3 抗體與表現嵌合抗原受體(CAR)之細胞組合向受試者投與。在某些實施例中，細胞為 T 細胞。

[0245] 在某些實施例中，本文揭示之抗-TIM-3 抗體與 TCR 模擬抗體組合向受試者投與。在某些實施例中，

TCR 模擬抗體為特異性結合至肽-MHC 複合物之抗體。關於 TCR 模擬抗體之非限制性實例，參見，例如，美國專利第 9,074,000 號及美國公開案第 US 2009/0304679 A1 號及第 US 2014/0134191 A1 號，其全部以引用方式併入本文。

[0246] 抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體及額外治療劑(例如，化學治療、放射治療、檢查點靶向劑、IDO 抑制劑、疫苗、佐劑、可溶性 TCR、表現 TCR 之細胞、表現嵌合抗原受體之細胞及/或 TCR 模擬抗體)可作為獨立劑型來單獨地、依序或同時投與。在一實施例中，非經腸投與抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體，並且經口投與 IDO 抑制劑。

[0247] 本文所述之抗體或醫藥組合物可藉由多種途徑遞送至受試者。此等途徑包括但不限於非經腸、鼻內、氣管內、經口、皮內、局部、肌肉內、腹膜內、經皮、靜脈內、鞘內、瘤內、結膜、動脈內及皮下途徑。在某些實施例中，靜脈內遞送抗體或醫藥組合物。亦可使用肺部投與，例如，藉由使用吸入器或噴霧器，及具有作為噴霧來使用之霧化劑的調配物。在某些實施例中，皮下或靜脈內遞送本文所述之抗體或醫藥組合物。在某些實施例中，動脈內遞送本文所述之抗體或醫藥組合物。在某些實施例中，瘤內遞送本文所述之抗體或醫藥組合物。在某些實施例中，將本文所述之抗體或醫藥組合物遞送至腫瘤引流淋巴結中。

[0248] 有效治療及/或預防病狀之抗體或組合物之量將視疾病之性質而定，並且可藉由標準臨床技術來判定。

[0249] 有待用於組合物中之精確劑量亦視投藥途徑以及感染或由此所致之疾病的嚴重性而定，並且應根據開業醫師之判斷及每個受試者之情況來決定。舉例而言，有效劑量亦可視以下因素而變化：投藥手段、目標位點、患者之生理狀況(包括年齡、體重及健康情況)、患者為人類抑或動物、所投與之其他藥劑、或治療為預防性抑或治療性的。通常，患者為人類，然而，亦可治療包括基因轉殖哺乳動物之非人類哺乳動物。治療劑量經最佳滴定以優化安全性及功效。

[0250] 本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體亦可用於使用為熟習此項技術者已知之經典免疫組織方法，包括免疫檢定，諸如酶聯免疫吸附檢定(ELISA)、免疫沉澱反應或西方印漬術來分析生物樣品中之 TIM-3(例如，人類 TIM-3)蛋白水準。合適的抗體檢定標記在此項技術中為已知的並且包括酶標記，諸如，葡萄糖氧化酶；放射性同位素，諸如碘(^{125}I 、 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氚(^3H)、銩(^{121}In)及鐳(^{99}Tc)；發光標記，諸如發光胺；以及螢光標記，諸如螢光素及若丹明，及生物素。此類標記可用於標記本文所述之抗體。或者，識別本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體的第二抗體可加以標記並且與抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體組合使用來偵測TIM-3(例如，人類 TIM-3)蛋白水準。因此，在一實施例

中，本發明係關於本發明之抗體在活體外偵測生物樣品中之 TIM-3(例如，人類 TIM-3)蛋白的用途。在另一實施例中，本發明係關於本發明之抗-TIM-3 抗體用於在活體外分析及/或偵測生物樣品中之 TIM-3(例如，人類 TIM-3)蛋白水準之用途，視情況其中抗-TIM-3 抗體接合至放射性核素或可偵測標記，且/或攜帶本文所述之標記，且/或其中使用免疫組織方法。

[0251] 分析 TIM-3(例如，人類 TIM-3)蛋白之表現水準意欲包括直接地(例如，藉由判定或估計絕對蛋白水準)或相對地(例如，藉由與第二生物樣品中之疾病相關蛋白水準進行比較)來定性或定量地量測或估計第一生物樣品中之 TIM-3(例如，人類 TIM-3)蛋白水準。可量測或估計第一生物樣品中之 TIM-3(例如，人類 TIM-3)多肽表現水準並且與標準 TIM-3(例如，人類 TIM-3)蛋白水準進行比較，該標準係獲自由不患病症之個體獲得之第二生物樣品或藉由將不患病症之個體群之水準取平均值來判定。如此項技術中應瞭解，一旦已知「標準」TIM-3(例如，人類 TIM-3)多肽水準，便可將其重複地用作比較標準。因此，在另一實施例中，本發明係關於分析及/或偵測生物樣品中之 TIM-3 蛋白水準，例如人類 TIM-3 蛋白水準的活體外方法，該方法包括藉由免疫組織方法來定性或定量地量測或估計生物樣品中之 TIM-3 蛋白，例如人類 TIM-3 蛋白之水準。

[0252] 如本文使用，術語「生物樣品」係指由潛在

表現 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之受試者、細胞株、組織或其他細胞來源獲得的任何生物樣品。由動物(例如，人類)獲得組織生檢及體液之方法在此項技術中為熟知的。生物樣品包括末梢單核血細胞。

[0253] 本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體可用於預測、診斷、監測及篩選應用，包括熟習此項技術者所熟知及標準的並且基於本發明之活體外及活體內應用。用於活體外評估及評價免疫系統狀況及/或免疫反應之預後、診斷、監測及篩選檢定及套組可用於對患者樣品(包括已知患有或疑似患有免疫系統功能障礙之患者的樣品)或關於預期或所需免疫系統反應、抗原反應或疫苗反應進行預測、診斷及監測以供評價。免疫系統狀況及/或免疫反應之評估及評價亦適用於與不同藥劑或抗體相比較來判定患者對於藥物之臨床試驗或投與特定化學治療劑、放射治療劑或抗體(包括其組合)的適合性。此類型之預測及診斷監測及評估在實務中利用針對乳腺癌中之 HER2 蛋白的抗體(HercepTestTM, Dako)，其中該檢定亦用於針對使用 Herceptin[®]之抗體療法來評價患者。活體內應用包括定向細胞療法及免疫系統調節及免疫反應之射線成像。因此，在一實施例中，本發明係關於一種本發明之抗-TIM-3 抗體及/或醫藥組合物，其係用作診斷劑。在一實施例中，本發明係關於一種本發明之抗-TIM-3 抗體及/或醫藥組合物，其係用於對患有或疑似患有免疫系統功能障礙之受試者及/或關於預期或所需免疫系統反應、抗原反應或

疫苗反應進行預測、診斷及/或監測之方法中。在另一實施例中，本發明係關於使用本發明之抗-TIM-3 抗體藉由在活體外分析及/或偵測受試者生物樣品中之人類 TIM-3 蛋白水準，對患有或疑似患有免疫系統功能障礙之受試者及/或關於預期或所需免疫系統反應、抗原反應或疫苗反應進行預測、診斷及/或監測的用途。

[0254] 在一實施例中，抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體可用於生檢樣品之免疫組織化學中。在一實施例中，該方法為活體外方法。在另一實施例中，抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體可用於偵測 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之水準，或在其膜表面上含有 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之細胞的水準，該等水準可與某些疾病症狀相關聯。本文描述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體可攜帶可偵測或功能性標記及/或可接合至放射性核素或可偵測標記。當使用螢光標記時，目前可利用之顯微術及螢光活化細胞分選分析(FACS)或此項技術中已知的兩種方法程序之組合可用於識別及定量特異性結合成員。本文描述之抗-TIM-3 (例如，人類 TIM-3)抗體可攜帶或可接合至螢光標記。示範性螢光標記包括例如反應性及接合探針，例如，胺基香豆素、螢光素及得克薩斯紅、Alexa Fluor 染料、Cy 染料及 DyLight 染料。抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體可攜帶或可接合至放射性標記或放射性核素，諸如同位素 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{51}Cr 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{117}Lu 、 ^{121}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{198}Au 、

^{211}At 、 ^{213}Bi 、 ^{225}Ac 及 ^{186}Re 。當使用放射性標記時，在此項技術中已知之目前可利用之計數程序可用於識別及定量抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體與 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之特異性結合。在標記為酶的情況下，偵測可藉由如在此項技術中已知之任何目前利用的比色、分光光度、螢光光度、電流定量或氣體定量技術完成。此可藉由在允許形成抗體與 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之間的複合物之條件下使樣品或對照樣品與抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體接觸來達成。將在抗體與 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之間形成之任何複合物予以偵測並且在樣品與對照中進行比較。鑒於本文描述之抗體對於 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之特異性結合，該等抗體可用於特異性偵測細胞表面上之 TIM-3(例如，人類 TIM-3)表現。本文描述之抗體亦可用於經由免疫親和純化來純化 TIM-3(例如，人類 TIM-3)。本文中亦包括檢定系統，該檢定系統可以測試套組、套組或部件套組形式來製備以便定量分析例如 TIM-3(例如，人類 TIM-3)或 TIM-3(例如，人類 TIM-3)/TIM-3(例如，人類 TIM-3)配位體複合物之存在程度。該系統、測試套組、套組或部件套組可包含經標記之組分，例如，標記抗體，及一或多種額外免疫化學試劑。

5.5 產生抗-TIM-3 抗體之多核苷酸、載體及方法

[0255] 在另一態樣中，本文提供包含編碼特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗原之本文所述之抗體或

其片段(例如，輕鏈可變區及/或重鏈可變區)之核苷酸序列的多核苷酸，以及載體，例如，用於在宿主細胞(例如，大腸桿菌及哺乳動物細胞)中重組表現的包含此等多核苷酸之載體。本文提供包含編碼本文提供之任何抗體之重鏈及/或輕鏈之核苷酸序列的多核苷酸，以及包含此等多核苷酸序列之載體，例如，用於其在宿主細胞，例如，哺乳動物細胞中之有效表現的表現載體。

[0256] 如本文使用，「經分離之」多核苷酸或核酸分子為與存在於核酸分子之天然來源(例如，小鼠或人類)中的其他核酸分子分離的分子。此外，「經分離之」核酸分子，諸如 cDNA 分子，在藉由重組技術產生時可大體上不含其他細胞材料或培養基，或當化學合成時大體上不含化學前驅物或其他化學品。舉例而言，措辭「大體上不含」包括具有少於約 15%、10%、5%、2%、1%、0.5%或 0.1%(尤其少於約 10%)之其他材料，例如，細胞材料、培養基、其他核酸分子、化學前驅物及/或其他化學品的多核苷酸或核酸分子之製劑。在一具體實施例中，編碼本文所述抗體之核酸分子經分離或純化。

[0257] 在具體態樣中，本文提供包含編碼抗體之核苷酸序列的多核苷酸，該等抗體特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)多肽並且包含如本文描述之胺基酸序列，以及與此類抗體競爭結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)多肽(例如，以劑量依賴性方式)或結合至與此類抗體相同之表位的抗體。

[0258] 在某些態樣中，本文提供包含編碼本文所述抗體之輕鏈或重鏈之核苷酸序列的多核苷酸。多核苷酸可包含編碼包含本文描述之抗體(參見，例如，表 1)之 VL FR 及 CDR 之輕鏈的核苷酸序列或編碼包含本文描述之抗體(參見，例如，表 1)之 VH FR 及 CDR 之重鏈的核苷酸序列。

[0259] 本文亦提供編碼例如藉由密碼子/RNA 優化、用異源信號序列置換及消除 mRNA 不穩定元件來優化之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體的多核苷酸。藉由在 mRNA 中引入密碼子變化及/或消除抑制區產生編碼抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其片段(例如，輕鏈、重鏈、VH 域或 VL 域)之優化核酸以便重組表現的方法可藉由調適在例如美國專利第 5,965,726 號；第 6,174,666 號；第 6,291,664 號；第 6,414,132 號；及第 6,794,498 號中描述之優化方法來執行，相應地，其全部以引用方式併入本文。舉例而言，RNA 內之可能剪接位點及不穩定元件(例如，富含 A/T 或 A/U 之元件)可在不改變由核酸序列編碼之胺基酸的情況下突變以提高 RNA 對於重組表現之穩定性。該等改變利用遺傳密碼之簡並性，例如，使用相同胺基酸之替代密碼子。在一些實施例中，可能需要改變一或多個密碼子以編碼保守突變，例如，具有與原始胺基酸類似之化學結構及性質及/或功能的類似胺基酸。相對於由未經優化之多核苷酸編碼之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體的表現，此類方法可增加抗-TIM-3(例如，人

類 TIM-3)抗體或其片段之表現至少 1 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或 100 倍或更大。

[0260] 在某些實施例中，編碼本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其片段(例如，VL 域及/或 VH 域)之經優化之多核苷酸序列可雜交至編碼本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其片段(例如，VL 域及/或 VH 域)之未經優化之多核苷酸序列之反義(例如，互補)多核苷酸。在具體實施例中，編碼本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或片段之經優化之核苷酸序列在高嚴格性條件下雜交至編碼本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其片段之未經優化之多核苷酸序列之反義多核苷酸。在一具體實施例中，編碼本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其片段之經優化之核苷酸序列在高嚴格性、中等或較低嚴格性雜交條件下雜交至編碼本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其片段之未經優化之核苷酸序列之反義多核苷酸。已描述關於雜交條件之資訊，參見，例如，美國專利申請公開案第 US 2005/0048549 號(例如，段落 72-73)，其全部以引用方式併入本文。

[0261] 可藉由此項技術中已知之任何方法獲得多核苷酸，並且可測定多核苷酸之核苷酸序列。編碼本文描述之抗體，例如，表 1 描述之抗體，及修飾型式之此等抗體的核苷酸序列可使用在此項技術中熟知之方法來測定，亦

即，已知編碼特定胺基酸之核苷酸密碼子以產生編碼該抗體之核酸的方式來組裝。編碼抗體之此種多核苷酸可由化學合成之寡核苷酸來組裝(例如，如 Kutmeier G 等人，(1994), *BioTechniques* 17: 242-6 中所述，其全部以引用方式併入本文)，簡言之，其涉及合成含有編碼抗體之序列之部分的重疊寡核苷酸，黏接並連接彼等寡核苷酸，隨後藉由 PCR 擴增經連接之寡核苷酸。

[0262] 或者，編碼本文所述抗體之多核苷酸可由來自合適來源(例如，融合瘤)之核酸使用此項技術中熟知之方法(例如，PCR 及其他分子選殖方法)產生。舉例而言，使用可雜交至已知序列之 3'及 5'末端的合成引子之 PCR 擴增可使用由產生所關注抗體之融合瘤細胞獲得的基因組 DNA 來進行。此類 PCR 擴增方法可用於獲得包含編碼抗體之輕鏈及/或重鏈之序列的核酸。此類 PCR 擴增方法可用於獲得包含編碼抗體之可變輕鏈區及/或可變重鏈區之序列的核酸。經擴增之核酸可選殖至載體中以便在宿主細胞中表現且進一步選殖以便例如生成嵌合及人源化抗體。

[0263] 若含有編碼特定抗體之核酸之純系不可獲得，但抗體分子序列為已知的，則編碼免疫球蛋白之核酸可經化學合成或藉由使用可雜交至序列之 3'及 5'末端之合成引子的 PCR 擴增或藉由使用寡核苷酸探針的選殖由合適的來源(例如，由表現該抗體之任何組織或細胞，諸如被選擇來表現本文所述抗體之融合瘤細胞中產生的抗體 cDNA 文庫或 cDNA 文庫或由其中分離的核酸，較佳聚 A+

RNA)獲得，該寡核苷酸探針對於特定基因序列具有特異性以便識別例如來自編碼該抗體之 cDNA 文庫的 cDNA 純系。隨後，藉由 PCR 生成之擴增核酸可使用此項技術中熟知之任何方法選殖至可複製的選殖載體中。

[0264] 編碼本文描述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體之 DNA 可使用習知程序(例如，藉由使用能夠特異性結合至基因編碼抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體之重鏈及輕鏈之寡核苷酸探針)容易地分離並測序。融合瘤細胞可充當此 DNA 之來源。一旦分離，便可將 DNA 置於表現載體中，接著轉染至宿主細胞諸如大腸桿菌細胞、猿猴 COS 細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞(例如，來自 CHO GS System™(Lonza)之 CHO 細胞)或不另外產生免疫球蛋白蛋白質之骨髓瘤細胞中，以獲得抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體在重組宿主細胞中之合成。

[0265] 為了產生完整抗體，包括 VH 或 VL 核苷酸序列、限制位點及保護限制位點之側接序列的 PCR 引子可用於在 scFv 純系中擴增 VH 或 VL 序列。使用熟習此項技術者已知之選殖技術，PCR 擴增 VH 域可選殖至表現重鏈恆定區，例如，人類 $\gamma 4$ 恆定區之載體中，並且 PCR 擴增 VL 域可選殖至表現輕鏈恆定區，例如，人類 κ 或 λ 恆定區之載體中。在某些實施例中，表現 VH 或 VL 域之載體包含 EF-1 α 啟動子、分泌信號、可變區之選殖位點、恆定域及選擇標記諸如新黴素。VH 及 VL 域亦可選殖至表現必要恆定區之一載體中。隨後，使用熟習此項技術者已知

之技術，將重鏈轉化載體及輕鏈轉化載體共轉染至細胞株中以產生表現全長抗體，例如，IgG 之穩定或瞬態細胞株。

[0266] DNA 亦可例如藉由替換編碼序列人類重鏈及輕鏈恆定域代替鼠科序列，或藉由將非免疫球蛋白多肽之編碼序列之全部或一部分共價連接至免疫球蛋白編碼序列來修飾。

[0267] 亦提供在高嚴格性、中等或較低嚴格性雜交條件下雜交至編碼本文所述抗體之多核苷酸的多核苷酸。在具體實施例中，本文所述之多核苷酸在高嚴格性、中等或較低嚴格性雜交條件下雜交至編碼本文提供之 VH 域及/或 VL 域的多核苷酸。

[0268] 雜交條件已在此項技術中描述並為熟習此項技術者所知。舉例而言，在嚴格條件下之雜交可涉及在約 45°C 下，雜交至 6x 氯化鈉/檸檬酸鈉(SSC)中之過濾器結合 DNA，繼之以在約 50-65°C 下，在 0.2xSSC/0.1% SDS 中之一或多次清洗；在高度嚴格條件下之雜交可涉及在約 45°C 下，雜交至 6xSSC 中之過濾器結合核酸，繼之以在約 68°C 下，0.1xSSC/0.2% SDS 中之一或多次清洗。在其他嚴格雜交條件下之雜交為熟習此項技術者已知並且已有所描述，參見，例如，Ausubel FM 等人編，(1989) Current Protocols in Molecular Biology，第 I 卷，Green Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., New York，第 6.3.1-6.3.6 及 2.10.3 頁，其全部以引用方式併入本

文。

[0269] 在某些態樣中，本文提供表現(例如，重組性地)特異性結合 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之本文描述之抗體的細胞(例如，宿主細胞)及相關多核苷酸及表現載體。本文提供包含含有編碼抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或片段之核苷酸序列之多核苷酸的載體(例如，表現載體)以便在宿主細胞，較佳哺乳動物細胞中重組表現。本文亦提供包含此等載體之宿主細胞以便重組表現本文描述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體(例如，人類或人源化抗體)。在一具體態樣中，本文提供產生本文所述抗體之方法，該等方法包括由宿主細胞中表現此抗體。

[0270] 特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)的本文所述之抗體(例如，全長抗體、抗體之重鏈及/或輕鏈或本文所述單鏈抗體)之重組表現涉及構築含有編碼該抗體之多核苷酸的表現載體。一旦已經獲得編碼抗體分子或抗體重鏈或輕鏈或其片段(例如，重鏈及/或輕鏈可變區)之多核苷酸，用於產生抗體分子之載體便可藉由重組 DNA 技術使用此項技術中熟知之技術產生。因此，本文描述藉由表現含有抗體或抗體片段(例如，輕鏈或重鏈)編碼核苷酸序列之多核苷酸來製備蛋白質的方法。熟習此項技術者熟知之方法可用於構築含有抗體或抗體片段(例如，輕鏈或重鏈)編碼序列及合適的轉錄及轉譯控制信號之表現載體。此等方法包括例如活體外重組 DNA 技術、合成技術及活體內基因重組。亦提供可複製載體，該等載體包含可

操作地連接至啟動子之核苷酸序列，該核苷酸序列編碼本文所述之抗體分子、抗體之重鏈或輕鏈、抗體之重鏈或輕鏈可變區或其片段、或重鏈或輕鏈 CDR。此類載體可例如包括編碼抗體分子之恆定區的核苷酸序列(參見，例如，國際公開案第 WO 86/05807 號及第 WO 89/01036 號；及美國專利第 5,122,464 號，其全部以引用方式併入本文)並且抗體之可變區可選殖至此類載體中以便表現整個重鏈、整個輕鏈或整個重鏈及輕鏈兩者。

[0271] 表現載體可藉由習知技術轉移至細胞(例如，宿主細胞)且接著，所得細胞可藉由習知技術培養以產生本文所述之抗體或其片段。因此，本文提供含有編碼本文所述之抗體或其片段、或其重鏈或輕鏈或其片段、或本文所述之單鏈抗體的多核苷酸之宿主細胞，該多核苷酸可操作地連接至啟動子以便在宿主細胞中表現此等序列。在某些實施例中，為了表現雙鏈抗體，個別地編碼重鏈及輕鏈兩者之載體可在宿主細胞中共表現以便表現整個免疫球蛋白分子，如下詳述。在某些實施例中，宿主細胞含有包含多核苷酸之載體，該多核苷酸編碼本文所述抗體之重鏈及輕鏈兩者或其片段。在具體實施例中，宿主細胞含有兩個不同載體，第一載體包含編碼本文所述抗體之重鏈或重鏈可變區或其片段之多核苷酸，並且第二載體包含編碼本文所述抗體之輕鏈或輕鏈可變區或其片段之多核苷酸。在其他實施例中，第一宿主細胞包含含有編碼本文所述抗體之重鏈或重鏈可變區或其片段之多核苷酸的第一載體，並且

第二宿主細胞包含含有編碼本文所述抗體之輕鏈或輕鏈可變區之多核苷酸的第二載體。在具體實施例中，由第一細胞表現之重鏈/重鏈可變區與第二細胞之輕鏈/輕鏈可變區締合以形成本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體。在某些實施例中，本文提供包含此第一宿主細胞及此第二宿主細胞之宿主細胞群。

[0272] 在一特定實施例中，本文提供載體群，其包含含有編碼本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體之輕鏈/輕鏈可變區之多核苷酸的第一載體，以及含有編碼本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體之重鏈/重鏈可變區之多核苷酸的第二載體。

[0273] 多種宿主表現載體系統可用於表現本文所述之抗體分子(參見，例如，美國專利第 5,807,715 號，其全部以引用方式併入本文)。此類宿主表現系統表示所關注之編碼序列可藉以產生且隨後得以純化之媒介物，而且亦表示可在用合適的核苷酸編碼序列轉化或轉染時原位表現本文所述抗體分子的細胞。此等宿主表現系統包括但不限於微生物，諸如細菌(例如，大腸桿菌及枯草桿菌)，該等細菌用含有抗體編碼序列之重組噬菌體 DNA、質體 DNA 或黏接質體 DNA 表現載體轉化；酵母(例如，畢赤酵母屬)，該酵母用含有抗體編碼序列之重組酵母表現載體轉化；昆蟲細胞系統，該等系統用含有抗體編碼序列之重組病毒表現載體(例如，桿狀病毒)感染；植物細胞系統(例如，綠藻，諸如萊茵衣藻)，該等系統用重組病毒表現載

體(例如，花椰菜嵌紋病毒，CaMV；菸草嵌紋病毒，TMV)感染或用含有抗體編碼序列之重組質體表現載體(例如，Ti 質體)轉化；或哺乳動物細胞系統(例如，COS(例如，COS1 或 COS)、CHO、BHK、MDCK、HEK 293、NS0、PER.C6、VERO、CRL7030、HsS78Bst、HeLa 及 NIH 3T3、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20 及 BMT10 細胞)，該等系統容納含有源自哺乳動物細胞之基因組(例如，金屬硫蛋白啟動子)或源自哺乳動物病毒(例如，腺病毒晚期啟動子；痘苗病毒 7.5K 啟動子)之啟動子的重組表現構築體。在一具體實施例中，表現本文描述之抗體之細胞為 CHO 細胞，例如來自 CHO GS System™(Lonza)之 CHO 細胞。在一特定實施例中，表現本文描述之抗體之細胞為人類細胞，例如，人類細胞株。在一具體實施例中，哺乳動物表現載體為 pOptiVEC™或 pcDNA3.3。在一特定實施例中，細菌細胞諸如大腸桿菌，或真核細胞(例如，哺乳動物細胞)，尤其用於表現整個重組抗體分子的細胞，係用於表現重組抗體分子。舉例而言，哺乳動物細胞諸如中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，連同載體諸如來自人類巨細胞病毒之主要中間早期基因啟動子元件為抗體之有效表現系統(Foecking MK & Hofstetter H (1986) Gene 45: 101-5；以及 Cockett MI 等人，(1990) Biotechnology 8(7): 662-7，其各自全部以引用方式併入本文)。在某些實施例中，本文描述之抗體係由 CHO 細胞或 NS0 細胞產生。在一具體實施例中，

編碼特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之本文所述抗體的核苷酸序列之表現藉由組成性啟動子、可誘導啟動子或組織特異性啟動子來調控。

[0274] 在細菌系統中，表現載體之數目可取決於所表現抗體分子之預定用途來有利地選擇。舉例而言，在為了產生抗體分子之醫藥組合物而製造大量此抗體時，引導容易純化之大量融合蛋白產物之表現的載體可為合意的。此等載體包括但不限於大腸桿菌表現載體 pUR278(Ruether U & Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2: 1791-1794)，其中抗體編碼序列可單獨地與 lacZ 編碼區域同框地連接至載體中以使得產生融合蛋白；pIN 載體(Inouye S & Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13: 3101-3109；Van Heeke G & Schuster SM (1989) J Biol Chem 24: 5503-5509)；及其類似載體，其全部以引用方式併入本文。舉例而言，pGEX 載體亦可用於表現呈與麩胱甘肽 5-轉移酶 (GST) 之融合蛋白形式的外源多肽。通常，此等融合蛋白為可溶的並且可藉由吸附並結合至基質麩胱甘肽瓊脂糖珠粒，隨後在自由麩胱甘肽存在下溶離來由裂解細胞中容易地純化。pGEX 載體被設計成包括凝血酶或因子 Xa 蛋白酶裂解位點以使得選殖目標基因產物可從 GST 部分中釋放。

[0275] 在昆蟲系統中，苜蓿銀紋夜蛾核型多角體病毒(AcNPV)例如可用作表現外源基因之載體。病毒生長在草地貪夜蛾(*Spodoptera frugiperda*)細胞中。抗體編碼序列可個別地選殖入病毒之非必要區域(例如多角體基因)中且

置於 AcNPV 啟動子(例如多角體啟動子)之控制下。

[0276] 在哺乳動物宿主細胞中，可利用許多病毒基表現系統。在腺病毒用作表現載體之情況下，所關注的抗體編碼序列可連接於腺病毒轉錄/轉譯控制複合體，例如晚期啟動子及三重前導序列。此嵌合基因可接著藉由活體外或活體內重組插入腺病毒基因組中。插入病毒基因組之非必要區域(例如，區域 E1 或 E3)將產生重組病毒，該病毒可存活並且能夠在感染宿主中表現抗體分子(例如，參見 Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81(12): 3655-9，其全部以引用方式併入本文)。亦可需要特定起始信號以便有效轉譯所插入之抗體編碼序列。此等信號包括 ATG 起始密碼子及相鄰序列。此外，起始密碼子必須與所需編碼序列之閱讀框架同相以確保整個插入物之轉譯。此等外源性轉譯控制信號及起始密碼子可有天然及合成之多種來源。表現效率可藉由納入合適的轉錄增強子元件、轉錄終止子等來增強(參見，例如，Bitter G 等人，(1987) *Methods Enzymol.* 153: 516-544，其全部以引用方式併入本文)。

[0277] 另外，可選擇調節插入序列之表現或以所需特定方式來修飾並加工基因產物的宿主細胞品系。蛋白質產物之此類修飾(例如，糖基化)及加工(例如，裂解)對於蛋白質之功能可為重要的。不同宿主細胞具有針對蛋白質及基因產物之轉譯後加工及修飾的特徵性及特定機制。可選擇合適的細胞株或宿主系統以確保所表現之外來蛋白之正確修飾及加工。為此目的，可使用具有用於適當加工初

級轉錄物、基因產物之糖基化及磷酸化之細胞機制的真核宿主細胞。此類哺乳動物宿主細胞包括但不限於 CHO、VERO、BHK、Hela、MDCK、HEK 293、NIH 3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20 及 T47D、NS0(一種鼠科骨髓瘤細胞株，其不內源地產生任何免疫球蛋白鏈)、CRL7030、COS(例如，COS1 或 COS)、PER.C6、VERO、HsS78Bst、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、BMT10 及 HsS78Bst 細胞。在某些實施例中，本文描述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體在哺乳動物細胞，諸如 CHO 細胞中產生。

[0278] 在一具體實施例中，本文描述之抗體具有減少的岩藻糖含量或沒有岩藻糖含量。此類抗體可使用熟習此項技術者已知之技術產生。舉例而言，抗體可在缺乏或沒有岩藻糖化能力之細胞中表現。在一具體實例中，剔除 $\alpha 1,6$ -岩藻糖基轉移酶之兩個等位基因的細胞株可用於產生具有減少的岩藻糖含量之抗體。Potelligent[®]系統(Lonza)為可用於產生具有減少的岩藻糖含量之抗體的此類系統之一實例。

[0279] 對重組蛋白質之長期、高產率生產而言，可產生穩定表現細胞。舉例而言，穩定表現本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體之細胞株可工程化。在具體實施例中，本文提供之細胞穩定表達輕鏈/輕鏈可變區及重鏈/重鏈可變區，其締合以形成本文所述抗體。

[0280] 在某些態樣中，代替使用含有病毒複製起點

之表現載體，宿主細胞可用由合適的表現控制元件(例如，啟動子、增強子、序列、轉錄終止子、多聚腺苷酸位點等)及可選擇標記控制之 DNA 來轉化。在引入外來 DNA/多核苷酸之後，可允許工程化細胞在富集培養基中生長 1-2 天，接著轉換至選擇性培養基。重組質體中之可選擇標記賦予選擇抗性並且允許細胞將質體穩定地整合至其染色體中並且生長以形成轉化灶，其進而可經選殖並擴增至細胞株中。此方法可有利地用於將表現本文所述之抗-TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗體或其片段的細胞株工程化。此類工程化細胞株可尤其適用於篩選及評價直接或間接地與抗體分子相互作用之組合物。

[0281] 可使用多種選擇系統，該等系統包括但不限於分別在 tk-、hgp^rt-或 ap^rt-細胞中之單純性疱疹病毒胸苷激酶(Wigler M 等人，(1977) Cell 11(1): 223-32)、次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖轉移酶(Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034)及腺嘌呤磷酸核糖轉移酶(Lowy I 等人，(1980) Cell 22(3): 817-23)基因，其全部以引用方式併入本文。抗代謝物抗性亦可用作選擇以下基因之基礎：*dhfr*，其賦予甲胺蝶呤抗性(Wigler M 等人，(1980) PNAS 77(6): 3567-70; O'Hare K 等人，(1981) PNAS 78: 1527-31)；*gpt*，其賦予麥可酚酸抗性(Mulligan RC & Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-6)；*neo*，其賦予胺基糖苷 G-418 抗性(Wu GY & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32:

573-596; Mulligan RC (1993) *Science* 260: 926-932 ; 以及 Morgan RA & Anderson WF (1993) *Ann Rev Biochem* 62: 191-217; Nabel GJ & Felgner PL (1993) *Trends Biotechnol* 11(5): 211-5) ; 及 hygro , 其賦予潮黴素抗性(Santerre RF 等人 , (1984) *Gene* 30(1-3): 147-56) , 其全部以引用方式併入本文。在重組 DNA 技術中通常已知之方法可常規地用於選擇所需重組純系並且此類方法例如在 Ausubel FM 等人(編) , *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler M, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990) ; 及第 12 及 13 章 , Dracopoli NC 等人(編) , *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, NY (1994); Colbère-Garapin F 等人 , (1981) *J Mol Biol* 150: 1-14 中描述 , 其全部以引用方式併入本文。

[0282] 抗體分子之表現水準可藉由載體擴增來增加(關於評述 , 參見 Bebbington CR & Hentschel CCG, *The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning* , 第 3 卷(Academic Press, New York, 1987) , 其全部以引用方式併入本文)。當表現抗體之載體系統中之標記可擴增時 , 存在於宿主細胞培養物中之抑制劑的水準之增加將增加標記基因之複本的數目。由於擴增區與抗體基因相關聯 , 因此抗體之產生亦增加(Crouse GF 等人 , (1983) *Mol Cell Biol* 3: 257-66 , 其全部以引用方式併入本

文)。

[0283] 宿主細胞可與本文所述之兩個或兩個以上表現載體共轉染，第一載體編碼重鏈衍生多肽並且第二載體編碼輕鏈衍生多肽。兩個載體可含有實現重鏈及輕鏈多肽之相等表現的相同可選擇標記。宿主細胞可與不同量之兩個或兩個以上表現載體共轉染。舉例而言，宿主細胞可用以下比率中之任一者的第一表現載體及第二表現載體來轉染：1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:12、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45或1:50。

[0284] 或者，可使用編碼並且能夠表現重鏈及輕鏈多肽兩者的單一載體。在此等情況下，輕鏈應置於重鏈之前以避免生成過量的有毒游離重鏈(Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565；以及 Köhler G (1980) PNAS 77: 2197-2199，其各自全部以引用方式併入本文)。重鏈及輕鏈之編碼序列可包含 cDNA 或基因組 DNA。表現載體可為單順反子或多順反子。多順反子核酸構築體可編碼 2、3、4、5、6、7、8、9、10 或 10 個以上或 2-5、5-10 或 10-20 個範圍內之基因/核苷酸序列。舉例而言，雙順反子核酸構築體可以如下順序包含啟動子、第一基因(例如，本文所述抗體之重鏈)及第二基因及(例如，本文所述抗體之輕鏈)。在此類表現載體中，兩個基因之轉錄可由啟動子來驅動，而來自第一基因之 mRNA 之轉譯可藉由帽依賴性掃描機制並且來自第二基因之 mRNA 之轉譯可藉由非帽

依賴性機制，例如，藉由 IRES。

[0285] 一旦本文所述之抗體分子藉由重組表現產生，其可藉由在此項技術中已知之純化免疫球蛋白分子之任何方法來純化，例如，藉由層析(例如，離子交換、親和力，尤其藉由蛋白 A 之後的針對特定抗原之親和力，及分級管柱層析)、離心、差異溶解性或純化蛋白質之任何其他標準技術。此外，本文描述之抗體可融合至本文所述或另外在此項技術中已知促進純化之異源多肽序列。

[0286] 在具體實施例中，將本文所述抗體分離或純化。總體上，分離抗體為大體上不含具有與分離抗體不同抗原特異性之其他抗體的抗體。舉例而言，在一個特定實施例中，本文所述抗體之製劑大體上不含細胞材料及/或化學前驅物。措辭「大體上不含細胞材料」包括如下抗體製劑，其中抗體與抗體得以從其中分離或重組產生之細胞之細胞成分分離。因此，大體上不含細胞材料之抗體包括具有少於約 30%、20%、10%、5%、2%、1%、0.5% 或 0.1%(乾重)異源蛋白(在本文中亦稱為「污染性蛋白」)之抗體製劑及/或抗體之變異體，例如，不同轉譯後修飾形式之抗體或其他不同型式之抗體(例如，抗體片段)。當抗體重組產生時，其亦總體上大體上不含培養基，即，培養基佔蛋白製劑之體積之約 20%、10%、2%、1%、0.5% 或 0.1% 以下。當抗體藉由化學合成來產生時，其總體上大體上不含化學前驅物或其他化學品，即，其與涉及合成蛋白之化學前驅物或其他化學品分離。因此，除了所關注抗體

以外，此等抗體製劑具有少於約 30%、20%、10%或 5% (乾重)之化學前驅物或化合物。在具體實施例中，將本文描述之抗體分離或純化。

[0287] 特異性結合 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之抗體或其片段可藉由在此項技術中已知之合成抗體之任何方法，例如，藉由化學合成或藉由重組表現技術來產生。除非另外指示，否則本文描述之方法使用分子生物學、微生物學、遺傳分析、重組 DNA、有機化學、生物化學、PCR、寡核苷酸合成及修飾、核酸雜交，及此項技術之技能範圍內之相關領域中之習知技術。此等技術例如在本文引用之參考文獻中描述並且在文獻中充分解釋。參見，例如，Maniatis T 等人，(1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J 等人，(1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*，第二版，Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J 等人，(2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM 等人，*Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 及每年更新)；*Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 及每年更新)Gait(編)(1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein(編)(1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren B 等人(編)(1999) *Genome Analysis: A*

Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 其全部以引用方式併入本文。

[0288] 在一具體實施例中，本文所述之抗體為藉由涉及生成之任何手段，例如，經由 DNA 序列之合成、遺傳工程來製備、表現、生成或分離抗體(例如，重組抗體)。在某些實施例中，此類抗體包含不天然地存在於活體內動物或哺乳動物(例如，人類)之抗體生殖系譜內之序列(例如，DNA 序列或胺基酸序列)。

[0289] 在一態樣中，本文提供一種製造特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之抗體的方法，該方法包括培養本文所述之細胞或宿主細胞。在一實施例中，該方法在活體外執行。在某一態樣中，本文提供一種製造特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之抗體的方法，該方法包括使用本文所述之細胞或宿主細胞(例如，包含編碼本文所述抗體之多核苷酸的細胞或宿主細胞)表現(例如，重組表現)抗體。在一特定實施例中，該細胞為經分離之細胞。在一特定實施例中，將外源性多核苷酸引入細胞中。在一特定實施例中，該方法進一步包括純化由細胞或宿主細胞獲得之抗體的步驟。

[0290] 產生多株抗體之方法在此項技術中為已知的(參見，例如，第 11 章：Short Protocols in Molecular Biology, (2002)第 5 版，Ausubel FM 等人編，John Wiley and Sons, New York，其全部以引用方式併入本文)。

[0291] 單株抗體可使用在本領域中已知的多種技術

包括使用融合瘤、重組體及噬菌體呈現技術或其組合來製備。舉例而言，單株抗體可使用融合瘤技術來產生，包括在此項技術中已知並且例如在 Harlow E & Lane D, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第 2 版 1988); Hammerling GJ 等人: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563 681 (Elsevier, N. Y., 1981)中教導之技術，其中之每一者全部以引用方式併入本文。如本文使用之術語「單株抗體」不限於經由融合瘤技術產生之抗體。舉例而言，單株抗體可從外源地表現本文所述抗體或其片段，例如，此抗體之輕鏈及/或重鏈的宿主細胞重組產生。

[0292] 在具體實施例中，如本文使用之「單株抗體」為藉由單一細胞(例如，產生重組抗體之融合瘤或宿主細胞)所產生的抗體，其中抗體特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)，如例如藉由 ELISA 或此項技術中或本文提供之實例中已知之其他抗原結合或競爭性結合檢定所判定。在具體實施例中，單株抗體可為嵌合抗體或人源化抗體。在某些實施例中，單株抗體為單價抗體或多價(例如，二價)抗體。在具體實施例中，單株抗體為單特異性或多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)。本文描述之單株抗體可例如藉由如 Kohler G & Milstein C (1975) *Nature* 256: 495 中所述之融合瘤方法製成，其全部以引用方式併入本文，或可例如使用如本文描述之技術由噬菌體文庫中分離。製備純系細胞株及由其表現之單株抗體的其他方法

在此項技術中為熟知的(參見，例如，第 11 章：Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 第 5 版，Ausubel FM 等人，*上述*)。

[0293] 使用融合瘤技術產生並篩選特異性抗體之方法在此項技術中為常規並且熟知的。舉例而言，在融合瘤方法中，小鼠或其他合適的宿主動物，諸如綿羊、山羊、兔、大鼠、倉鼠或獼猴，經免疫接種以引起淋巴細胞產生或能夠產生用於免疫接種的特異性結合至蛋白質(例如，TIM-3(例如，人類 TIM-3))之抗體。或者，可活體外使淋巴細胞免疫。接著，使用合適的融合劑，諸如聚乙二醇將淋巴細胞與骨髓瘤細胞融合，以形成融合瘤細胞(Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, 第 59-103 頁(Academic Press, 1986)，其全部以引用方式併入本文)。另外，RIMMS(重複免疫接種多位點)技術可用於使動物免疫(Kilpatrick KE 等人，(1997) *Hybridoma* 16:381-9，其全部以引用方式併入本文)。

[0294] 在一些實施例中，小鼠(或其他動物，諸如大鼠、猴子、驢、豬、綿羊、倉鼠或犬)可用抗原(例如，TIM-3(例如，人類 TIM-3))免疫接種並且一旦偵測到免疫反應，例如，在小鼠血清中偵測到對於抗原具有特異性之抗體，便收穫小鼠脾臟並且將脾細胞分離。隨後，藉由熟知技術將脾細胞融合至任何合適骨髓瘤細胞，例如可由美國菌種保藏中心(ATCC®)(Manassas, VA)獲得之細胞株 SP20 之細胞，以形成融合瘤。融合瘤藉由有限稀釋來選

擇並選殖。在某些實施例中，收穫免疫接種小鼠之淋巴結並且與 NS0 骨髓瘤細胞融合。

[0295] 將由此製備之融合瘤細胞接種並在合適的培養基中生長，該培養基較佳含有抑制未融合、親本骨髓瘤細胞之生長或存活的一或多種物質。舉例而言，若親本骨髓瘤細胞缺乏酶次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶 (HGPRT 或 HPRT)，則融合瘤之培養基通常包括次黃嘌呤、胺基嘌呤及胸苷 (HAT 培養基)，該等物質防止 HGPRT 缺陷細胞之生長。

[0296] 具體實施例使用骨髓瘤細胞，該等細胞有效地融合，藉由所選擇的產生抗體之細胞來支援抗體之穩定的高水準產生，並且對於培養基諸如 HAT 培養基為敏感的。鼠科骨髓瘤株在此等骨髓瘤細胞株之中，諸如 NS0 細胞株或衍生自可由 Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, CA, USA 獲得之 MOPC-21 及 MPC-11 小鼠腫瘤的細胞株，及可由 American Type Culture Collection, Rockville, MD, USA 獲得之 SP-2 或 X63-Ag8.653 細胞。人類骨髓瘤及小鼠-人類異源骨髓瘤細胞株亦已描述可產生人類單株抗體 (Kozbor D (1984) J Immunol 133: 3001-5; Brodeur 等人, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 第 51-63 頁 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)，其各自全部以引用方式併入本文)。

[0297] 使融合瘤細胞生長之培養基針對 TIM-3 (例如

人類 TIM-3)之單株抗體之產生來加以檢定。藉由融合瘤細胞所產生的單株抗體之結合特異性藉由此項技術中已知之方法來判定，例如，免疫沉澱反應或藉由活體外結合檢定，諸如放射免疫檢定(RIA)或酶聯免疫吸附檢定(ELISA)。

[0298] 在鑒別產生具有所需特異性、親和力及/或活性之抗體的融合瘤細胞之後，該等純系可藉由限制稀釋程序進行次選殖並且藉由標準方法(Goding JW(編)，*Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*，上述)生長。用於此目的之合適培養基包括例如 D-MEM 或 RPMI1640 培養基。此外，該等融合瘤細胞可作為動物體內之腹水腫瘤活體內生長。

[0299] 由亞純系分泌之單株抗體可藉由習知免疫球蛋白純化程序（例如蛋白質 A-瓊脂糖、羥基磷灰石層析法、凝膠電泳、透析或親和層析法）自培養基、腹水或血清中分離。

[0300] 本文所述之抗體包括抗體片段，該等片段識別特異性 TIM-3(例如，人類 TIM-3)並且可藉由熟習此項技術者已知之任何技術產生。舉例而言，本文所述之 Fab 及 $F(ab')_2$ 片段可藉由免疫球蛋白分子之蛋白裂解，使用酶諸如木瓜蛋白酶(產生 Fab 片段)或胃蛋白酶(產生 $F(ab')_2$ 片段)而產生。Fab 片段對應於抗體分子之兩個相同臂中之一者並且含有與重鏈之 VH 及 CH1 域配對之完整輕鏈。 $F(ab')_2$ 片段含有藉由鉸鏈區中之二硫鍵連接的抗體

分子之兩個抗原結合臂。

[0301] 此外，本文所述之抗體亦可使用此項技術中已知之各種噬菌體呈現方法生成。在噬菌體呈現方法中，功能性抗體域在攜帶多核苷酸序列之噬菌體顆粒之表面上呈現，該等多核苷酸序列編碼該等抗體域。具體而言，編碼 VH 及 VL 域之 DNA 序列係由動物 cDNA 文庫(例如，患病組織之人類或鼠科 cDNA 文庫)中擴增。藉由 PCR 將編碼 VH 及 VL 域之 DNA 與 scFv 連接子重組在一起並且選殖至噬菌質體載體中。將載體電穿孔至大腸桿菌中並且用輔助噬菌體感染大腸桿菌。用於此等方法中之噬菌體通常為包括 fd 及 M13 之絲狀噬菌體，並且 VH 及 VL 域通常重組融合至噬菌體基因 III 或基因 VIII 中。表現結合至特定抗原之抗原結合域之噬菌體可使用抗原來選擇或識別，例如，使用經標記抗原或結合或捕獲至固體表面或珠粒上之抗原。可用於製造本文所述之抗體的噬菌體呈現方法之實例包括以下文獻中揭示之方法：Brinkman U 等人，(1995) J Immunol Methods 182: 41-50; Ames RS 等人，(1995) J Immunol Methods 184: 177-186; Kettleborough CA 等人，(1994) Eur J Immunol 24: 952-958; Persic L 等人，(1997) Gene 187: 9-18; Burton DR & Barbas CF (1994) Advan Immunol 57: 191-280；PCT 申請案第 PCT/GB91/001134 號；國際公開案第 WO 90/02809 號、第 WO 91/10737 號、第 WO 92/01047 號、第 WO 92/18619 號、第 WO 93/11236 號、第 WO 95/15982 號、第 WO 95/20401 號及

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

[0302] 如以上參考文獻中所描述，在噬菌體選擇之後，來自噬菌體之抗體編碼區可經分離並且用於產生完整抗體，包括人類抗體或任何其他所需抗原結合片段，並且在任何所需宿主，包括哺乳動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞、酵母及細菌中表現，例如如下所述。重組產生抗體片段諸如 Fab，Fab'及 F(ab')₂ 片段之技術亦可使用此項技術中已知之方法諸如在 PCT 公開案第 WO 92/22324 號；Mullinax RL 等人，(1992) BioTechniques 12(6): 864-9; Sawai H 等人，(1995) Am J Reprod Immunol 34: 26-34；以及 Better M 等人，(1988) Science 240: 1041-1043 中揭示之方法來使用，其全部以引用方式併入本文。

[0303] 在某些實施例中，為了產生完整抗體，包括 VH 或 VL 核苷酸序列、限制位點及保護限制位點之側接序列的 PCR 引子可用於自模板例如 scFv 純系來擴增 VH 或 VL 序列。使用熟習此項技術者已知之選殖技術，PCR 擴增之 VH 域可選殖至表現 VH 恆定區之載體中，並且 PCR 擴增之 VL 域可選殖至表現 VL 恆定區，例如人類 κ 或 λ 恆定區之載體中。VH 及 VL 域亦可選殖至表現必需

恆定區之一個載體中。隨後使用熟習此項技術者已知之技術，將重鏈轉化載體及輕鏈轉化載體共轉染至細胞株中以產生表現全長抗體之穩定或瞬態細胞株，例如，IgG。

[0304] 嵌合抗體為其中抗體之不同部分衍生自不同免疫球蛋白分子的分子。舉例而言，嵌合抗體可含有融合至人類抗體之恆定區的小鼠或大鼠單株抗體之可變區。產生嵌合抗體之方法在此項技術中為已知的。參見，例如，Morrison SL (1985) Science 229: 1202-7; Oi VT & Morrison SL (1986) BioTechniques 4: 214-221; Gillies SD 等人，(1989) J Immunol Methods 125: 191-202；以及美國專利第 5,807,715 號、第 4,816,567 號、第 4,816,397 號及第 6,331,415 號，其全部以引用方式併入本文。

[0305] 人源化抗體能夠結合至預定抗原並且包含具有大體上人類免疫球蛋白之胺基酸序列的構架區域及具有大體上非人類免疫球蛋白(例如，鼠科免疫球蛋白)之胺基酸序列的 CDR。在具體實施例中，人源化抗體亦包含通常為人類免疫球蛋白之免疫球蛋白恆定區(Fc)的至少一部分。抗體亦可包括重鏈之 CH1、鉸鏈、CH2、CH3 及 CH4 區。人源化抗體可選自任何免疫球蛋白類別，包括 IgM、IgG、IgD、IgA 及 IgE，及任何同種型，包括 IgG₁、IgG₂、IgG₃ 及 IgG₄。人源化抗體可使用在本領域中已知的各種技術而產生，包括但不限於 CDR 移植(歐洲專利第 EP 239400 號；國際公開案第 WO 91/09967 號；及美國專利第 5,225,539、第 5,530,101 號及第 5,585,089 號)，飾面或

表面再塑(歐洲專利第 EP 592106 號及第 EP 519596 號 ; Padlan EA(1991)Mol Immunol 28(4/5): 489-498; Studnicka GM 等人 , (1994) Prot Engineering 7(6): 805-814 ; 以及 Roguska MA 等人 , (1994) PNAS 91: 969-973) , 鏈改組(美國專利第 5,565,332 號) , 及在例如美國專利第 6,407,213 號 、 美國專利第 5,766,886 號 、 國際公開案第 WO 93/17105; Tan P 等人 , (2002) J Immunol 169: 1119-25; Caldas C 等人 , (2000) Protein Eng. 13(5): 353-60; Morea V 等人 , (2000) Methods 20(3): 267-79; Baca M 等人 , (1997) J Biol Chem 272(16): 10678-84; Roguska MA 等人 , (1996) Protein Eng 9(10): 895 904; Couto JR 等人 , (1995) Cancer Res. 55 (23 Supp): 5973s-5977s; Couto JR 等人 , (1995) Cancer Res 55(8): 1717-22; Sandhu JS (1994) Gene 150(2): 409-10 以及 Pedersen JT 等人 , (1994) J Mol Biol 235(3): 959-73 中揭示之技術 , 其全部以引用方式併入本文 。 亦參見美國申請案公開案第 US 2005/0042664 A1 號(2005 年 2 月 24 日) , 其全部以引用方式併入本文 。

[0306] 已經描述製造多特異性(例如 , 雙特異性抗體)之方法 , 參見 , 例如 , 美國專利第 7,951,917 號 ; 第 7,183,076 號 ; 第 8,227,577 號 ; 第 5,837,242 號 ; 第 5,989,830 號 ; 第 5,869,620 號 ; 第 6,132,992 號及第 8,586,713 號 , 其全部以引用方式併入本文 。

[0307] 單結構域抗體 , 例如 , 缺乏輕鏈之抗體可藉

由此項技術中熟知之方法產生。參見 Riechmann L & Muyldermans S (1999) J Immunol 231: 25-38; Nuttall SD 等人, (2000) Curr Pharm Biotechnol 1(3): 253-263; Muyldermans S, (2001) J Biotechnol 74(4): 277-302; 美國專利第 6,005,079 號; 以及國際公開案第 WO 94/04678 號、第 WO 94/25591 號及第 WO 01/44301 號, 其全部以引用方式併入本文。

[0308] 此外, 使用熟習此項技術者熟知之技術, 特異性結合至 TIM-3(例如, 人類 TIM-3)抗原之抗體可進而用於產生「模擬」抗原之抗獨特型抗體。參見, 例如, Greenspan NS & Bona CA (1989) FASEB J 7(5): 437-444; 及 Nissinoff A (1991) J Immunol 147(8): 2429-2438, 其各自全部以引用方式併入本文。

[0309] 在具體實施例中, 與本文所述之抗-TIM-3(例如, 人類 TIM-3)抗體結合至 TIM-3(例如, 人類 TIM-3)之相同表位的本文所述抗體為人類抗體。在具體實施例中, 競爭性阻斷(例如, 以劑量依賴性方式)本文描述之抗體中之任一者結合至 TIM-3(例如, 人類 TIM-3)之本文所述抗體為人類抗體。人類抗體可使用此項技術中已知之任何方法產生。舉例而言, 可使用不能表現功能性內源性免疫球蛋白, 但可表現人類免疫球蛋白基因的基因轉殖小鼠。具體而言, 人類重鏈及輕鏈免疫球蛋白基因複合物可隨機地或藉由同源重組引入小鼠胚胎幹細胞中。或者, 除了人類重鏈及輕鏈基因以外, 人類可變區、恆定區及多變區亦可

引入小鼠胚胎幹細胞中。小鼠重鏈及輕鏈免疫球蛋白基因可與藉由同源重組引入人類免疫球蛋白基因座分開地或同時地變成非功能性的。具體而言，J_H 區之同型接合缺失防止內源性抗體產生。將經修飾之胚胎幹細胞擴增並且顯微注射至胚胎中以產生嵌合小鼠。接著，使嵌合小鼠繁殖以產生表現人類抗體之同型接合子代。將基因轉殖小鼠以正常方式用選定抗原，例如，抗原(例如，TIM-3(例如，人類 TIM-3))之全部或一部分免疫接種。針對抗原之單株抗體可使用習知的融合瘤技術由經免疫接種之基因轉殖小鼠獲得。由基因轉殖小鼠載有之人類免疫球蛋白轉殖基因在B細胞分化期間重新排列，隨後經歷類別轉換及體細胞突變。因此，使用此類技術，可能產生治療上適用之 IgG、IgA、IgM 及 IgE 抗體。關於產生人類抗體之此項技術之概述，參見 Lonberg N & Huszar D (1995) Int Rev Immunol 13:65-93，其全部以引用方式併入本文。關於產生人類抗體及人類單株抗體之此項技術及產生此類抗體之實驗程序的詳細論述，參見，例如，國際公開案第 WO 98/24893，第 WO 96/34096 及第 WO 96/33735 號；及美國專利第 5,413,923 號、第 5,625,126 號、第 5,633,425 號、第 5,569,825 號、第 5,661,016 號、第 5,545,806 號、第 5,814,318 號及第 5,939,598 號，其全部以引用方式併入本文。能夠產生人類抗體之小鼠之實例包括 XenomouseTM(Abgenix, Inc.；美國專利第 6,075,181 號及第 6,150,184 號)，HuAb-MouseTM(Mederex, Inc./Gen Pharm；美國專利第 5,545,806

及 5,569,825 號)，Trans Chromo MouseTM(Kirin)以及 KM MouseTM(Medarex/Kirin)，其全部以引用方式併入本文。

[0310] 特異性結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)之人類抗體可藉由此項技術中已知之多種方法製成，包括如上所述使用衍生自人類免疫球蛋白序列之抗體文庫的噬菌體呈現方法。亦參見美國專利第 4,444,887 號、第 4,716,111 號及第 5,885,793 號；以及國際公開案第 WO 98/46645 號、第 WO 98/50433 號、第 WO 98/24893 號、第 WO 98/16654 號、第 WO 96/34096 號、第 WO 96/33735 號及第 WO 91/10741 號，其全部以引用方式併入本文。

[0311] 在一些實施例中，人類抗體可使用小鼠-人類融合瘤產生。舉例而言，用埃-巴二氏病毒(EBV)轉化之人類末梢血淋巴細胞可與小鼠骨髓瘤細胞融合以產生分泌人類單株抗體之小鼠-人類融合瘤，並且可對此等小鼠-人類融合瘤加以篩選以判定分泌特異性結合至目標抗原(例如，TIM-3(例如，人類 TIM-3))之人類單株抗體的融合瘤。此等方法為已知的並且在此項技術中有所描述，參見，例如，Shinmoto H 等人，(2004) Cytotechnology 46: 19-23; Naganawa Y 等人，(2005) Human Antibodies 14: 27-31，其各自全部以引用方式併入本文。

5.6 套組

[0312] 亦提供包含本文描述之一或多種抗體、或其醫藥組合物或接合物的套組。在一具體實施例中，本文提

供一種醫藥包裝或套組，該包裝或套組包括一或多個容器，該等容器填充有本文所述之醫藥組合物之一或多種成分，諸如本文提供之一或多種抗體。在一些實施例中，套組含有本文所述之醫藥組合物及任何預防或治療劑，諸如本文所述之預防或治療劑。在某些實施例中，套組可含有T細胞促分裂原，諸如，例如，植物血球凝集素(PHA)及/或佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯(PMA)，或TCR複合刺激抗體，諸如抗CD3抗體及抗CD28抗體。視情況，此類容器可附有管理藥物或生物製品之製造、使用或銷售之政府機構所規定形式的須知，該須知反映了該機構對製造、使用或銷售以供人類投藥之批准。

[0313] 亦提供可用於上述方法中之套組。在一實施例中，套組在一或多個容器中包含本文所述之抗體，較佳經純化之抗體。在一具體實施例中，本文所述之套組含有大體上分離之TIM-3(例如，人類TIM-3)抗原作為對照。在另一具體實施例中，本文所述之套組進一步包含不與TIM-3(例如，人類TIM-3)抗原反應之對照抗體。在另一具體實施例中，本文所述之套組含有用於偵測抗體結合至TIM-3(例如，人類TIM-3)抗原之一或多個要素(例如，該抗體可接合至可偵測受質，諸如螢光化合物、酶受質、放射性化合物或發光化合物，或識別第一抗體之第二抗體可接合至可偵測受質)。在具體實施例中，本文提供之套組可包括重組產生或化學合成之TIM-3(例如，人類TIM-3)抗原。在套組中提供之TIM-3(例如，人類TIM-3)抗原亦

可連接至固體支撐物。在一更具體實施例中，上述套組之偵測構件包括 TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗原所連接至的固體支撐物。此類套組亦可包括非連接的報道子標記之抗人類抗體或抗小鼠/大鼠抗體。在此實施例中，抗體結合至 TIM-3(例如，人類 TIM-3)抗原可藉由該報道子標記抗體之結合來偵測。在一實施例中，本發明係關於本發明之套組在活體外分析及/或偵測生物樣品中之 TIM-3 抗原(例如，人類 TIM-3)中的用途。

6. 實例

[0314] 在此部分(即，部分 6)中之實例為了說明而提供，並且不具有限制性。

6.1 實例 1：針對人類 TIM-3 之新穎抗體之產生及表徵

[0315] 此實例描述結合至人類 T 細胞免疫球蛋白及黏蛋白域-3(TIM-3)之抗體之產生及表徵。具體而言，此實例描述特異性結合至人類 TIM-3 並且抑制人類 TIM-3 之功能的人類抗體之產生。

[0316] 在以下描述之一些研究中，將本發明之抗-TIM-3 抗體之活性與參考抗-TIM-3 抗體 pab1944w 或 Hum11 之活性相比較。抗體 pab1944w 係基於在美國專利第 8,552,156 號(全部以引用方式併入本文)中提供之抗體 8213 HV0LV0 之可變區產生。pab1944w 之序列在表 7 中示出。抗體 pab1944w 表現為包含 Fc 區中之 N297A 突變

之 IgG₁ 抗體，根據 EU 編號系統來對其編號。抗體 Hum11 係基於在美國專利公開案第 US 2015/0218274 號 (其全部以引用方式併入本文) 中提供之抗體 ABTIM3-hum11 之可變區產生。Hum11 之序列在表 7 中示出。抗體 Hum11 表現為包含 Fc 區中之 S228P 突變的 IgG₄ 抗體，根據 EU 編號系統來對其編號。

表 7. 參考抗 - TIM - 3 抗體之序列。

SEQ ID NO:	描述	胺基酸序列
80	pab1944w VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVR QAPGQGLEWMGEINPSNGRTNYNEKFKTRVTITADTSTSTA YMESSLRSED TAVYYCARGYYLYFDYWGQGLTVTVSS
81	pab1944w VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGIRINIGWYQQKPGK APKLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCVQYQGQFPWTFGQGTKLEIK
89	pab1944w (IgG ₁ N297A)全長重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVR QAPGQGLEWMGEINPSNGRTNYNEKFKTRVTITADTSTSTA YMESSLRSED TAVYYCARGYYLYFDYWGQGLTVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G
90	pab1944w (IgG ₁ N297A)全長輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGIRINIGWYQQKPGK APKLLIYHGTNLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCVQYQGQFPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ DSKDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK SFNRGEC
82	Hum11 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQ APGQGLEWMGDIYPGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTV YMESSLRSED TAVYYCARVGGAFPM DYWGQGT TVTVSS
83	Hum11 VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSMLQWYQ QKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
91	Hum11 (IgG ₄ S228P)全長重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTSYNMHWVRQ APGQGLEWMGDIYPGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTV YMESSLRSED TAVYYCARVGGAFPM DYWGQGT TVTVSS ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTC NVDHKPSNTKVDKRVEPKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
92	Hum11 (IgG ₄ S228P)全長輕鏈	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSMLQWYQ QKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

6.1.1 使用 Retrocyte Display™技術之抗-TIM-3 抗體的生成

[0317] 本文描述 Retrocyte Display™文庫之生成。為了產生文庫插入物，經由苯酚/氯仿自 FACS 分選之 CD19 陽性人類 B 淋巴細胞提取總 RNA。總 RNA 係用於使用來自 Fermentas 之 RevertAid First Strand cDNA 合成套組(目錄編號(Cat#)K1621 及 K1622)進行第一鏈 cDNA 合成。抗體可變區藉由 PCR 自 cDNA 擴增並且選殖至逆轉錄病毒表現載體(pCMA)中。隨後使用 Retrocyte Display™技術，將此等構築體用於轉導鼠科 preB 細胞以便在表面上表現抗體。

[0318] 將如上所述生成之 Retrocyte Display™文庫針對重組人類 TIM-3 及重組食蟹獼猴 TIM-3 進行篩選，造成兩種抗體之鑒別，命名為 pab2085 及 pab2088。pab2085 及 pab2088 之可變區之序列資訊總結於表 4 中。抗體 pab2085 及 pab2088 表現為 IgG₁ 抗體並且在以下描述之檢定中分析。

6.1.2 抗-TIM-3 抗體與表現 TIM-3 之細胞的結合

[0319] 使用流式細胞術對抗體 pab2085 及 pab2088 與表現 TIM-3 之細胞的結合進行測試。簡言之，將野生型鼠科 1624-5 細胞或經工程化以表現人類 TIM-3 之 1624-5 細胞與小鼠 Fc-受體阻斷劑(BD Pharmingen, Cat# 553142)一起培育以減少非特異性結合。在洗滌之後，將細胞用抗

-TIM-3 抗體或同種型對照抗體染色並且使用 FACSCalibur (BD Biosciences)來分析。pab2085 及 pab2088 二者均展示結合至表現人類 TIM-3 之 1624-5 細胞但不結合至野生型 1624-5 細胞(圖 1)。

6.1.3 抗-TIM-3 抗體之選擇性檢定

[0320] 使用懸浮陣列技術，將 pab2085 及 pab2088 對於 TIM-3 之選擇性針對家族成員 TIM-1 及 TIM-4 進行評估。經由與 COOH 珠粒表面之胺偶聯，將 Luminex[®]微球與重組人類 TIM-3 Fc(R&D Systems, Cat# 2365-TM)、重組人類 TIM-3 His(Sino Biological, Cat# 10390-H08H)、重組食蟹獼猴 TIM-3 Fc(R&D Systems, Cat# 7914-TM)、重組人類 TIM-1 His(R&D Systems, Cat# 1750-TM)或重組人類 TIM-4 His(R&D, Cat# 2929-TM)偶聯。將經純化之 pab2085、pab2088 及 IgG₁ 同種型對照抗體在檢定緩衝液(Roche, Cat# 11112589001)中稀釋至 10 ng/ml、100 ng/ml 及 1000 ng/ml。在 96 半孔濾板(Millipore, Cat# MABVN1250)中，將各稀釋液(25 μ l)在黑暗中(20 $^{\circ}$ C，650 rpm)與 5 μ l 檢定緩衝液中之 1500 Luminex[®]微球一起培育 1 小時。使用具有 1:3 稀釋系列(0.08-540 ng/ml)之 25 μ l 人類 IgG₁ κ 標準(Sigma, Cat# I5154)的重複試驗生成標準曲線。使用 60 μ l 以 R-PE(2.5 μ g/ml; Jackson ImmunoResearch, Cat# 109-116-097)標記之山羊抗人類 IgG F(ab)₂ 進行偵測並且再培育 1 小時(20 $^{\circ}$ C，650 rpm)。使用 Luminex[®] 200 系統

(Millipore)分析板。在 48 μ l 樣品體積中，每孔計數總共 100 個珠粒。PE MFI 值係用於判定與以上提及之重組蛋白的特異性或非特異性結合。

[0321] pab2085(圖 2A)及 pab2088(圖 2B)顯示特異性結合至人類及食蟹獼猴 TIM-3，並且在所測試的濃度下未觀察到顯著結合至 TIM-1 或 TIM-4。

6.1.4 使用 Retrocyte Display™技術之抗-TIM-3 抗體之優化

[0322] 抗體 pab2085 及 pab2088 共用同一重鏈。為了獲得額外的抗-TIM-3 抗體，基於 pab2085 及 pab2088 之重鏈生成重鏈 Retrocyte Display™子文庫並且與更多樣之輕鏈文庫組合。將此新穎 Retrocyte Display™文庫針對重組人類 TIM-3 及重組食蟹獼猴 TIM-3 進行進一步篩選，造成輕鏈優化之變異體之識別：pab2173、pab2174、pab2175、pab2176、pab2177、pab2178、pab2179、pab2180、pab2181、pab2182、pab2183、pab2184、pab2185、pab2186、pab2187、pab2188、pab2189、pab2190、pab2191 及 pab2192。此等輕鏈優化之變異體之可變區之序列資訊在表 4 中列出。輕鏈優化之變異體表現為含有野生型 IgG₁ Fc 區或 IgG₁ 變異體 Fc 區之抗體。此 IgG₁ 變異體 Fc 區不影響 Fc 區之效應功能。

[0323] 輕鏈優化之抗體 pab2188 抗體為在輕鏈恆定域中含有根據 Kabat 編號之 T109S 取代(即，相對於野生

型序列，在位置 109 處，用絲胺酸取代酰胺酸)從而促進可變區同框選殖至恆定區中的抗體。此突變為不影響抗體結合或功能之保守修飾。亦生成在根據 Kabat 編號之輕鏈之位置 109 處含有酰胺酸的野生型對應物，命名為 pab2188w。抗體 pab2188w 表現為含有 IgG₁ N297A Fc 區之抗體。

6.1.5 抗-TIM-3 抗體結合至 TIM-3-表現細胞

[0324] 在與如上所述之檢定類似的流式細胞術檢定中，輕鏈優化之變異體針對結合至表現人類或食蟹獼猴 TIM-3 之細胞來進行評估。所有變異體展示結合至經工程化以表現人類 TIM-3(圖 3A 及 3B)或食蟹獼猴 TIM-3(圖 3C 及 3D)之鼠科 1624-5 細胞，但不結合至野生型鼠科 1624-5 細胞(資料未展示)。

[0325] 將輕鏈優化之變異體結合至初級人類 T 細胞與親本抗體 pab2085 之結合比較。簡言之，使用基於磁性之分離(Miltenyi Biotec)，經由聚蔗糖梯度由健康供體膚色血球層(Research Blood Components, LLC)分離之末梢血單核細胞(PBMC)針對原樣全 T 細胞進行富集。隨後，在 37°C 及 5% CO₂ 下，在補充有 10%熱滅活 FBS 之 RPMI 培養基中，將 T 淋巴細胞之富集群用板結合之抗 CD3 抗體(SP34, 3 µg/ml)及可溶性抗 CD28 抗體(CD28.1, 2 µg/ml)活化 3 天。活化之後，在室溫下，將細胞與人類 Fc 受體阻斷劑一起培育 15 分鐘以減少非特異性結合(FcR 阻斷

劑，Biolegend)。將抗-TIM-3 或 IgG 同種型對照抗體(12 點劑量滴定，10,000 ng/ml 至 0.06 ng/ml)添加至個別樣品中並且在 4°C 下培育 30 分鐘。將樣品洗滌兩次並且含有全部為 2.5 µg/ml 之 FITC 接合抗-κ 抗體以及抗 CD3 (BV711, OKT3)、抗 CD4(BV605, OKT4)及抗 CD8a(PE, RPA-T8 之抗體混合物在緩衝液(PBS, 2 mM EDTA, 0.5% BSA, pH 7.2)中稀釋，添加至每個樣品並且在 4°C 下培育 30 分鐘。將樣品洗滌兩次並且使用 LSRFortessa 流式細胞儀(BD Biosciences)來分析。使用 FACS DIVA 及 WEHI Weasel 軟體之組合分析流式細胞術圖表。

[0326] 如圖 4 示出，與親本抗體 pab2085 相比，在此項研究中測試之所有輕鏈優化之變異體顯示更強結合至活化人類 CD8+ T 細胞。

[0327] 隨後，抗-TIM-3 抗體 pab2188 針對其結合至初級食蟹獼猴細胞來進行檢查。將從食蟹獼猴(Worldwide Primates, Inc.)分離之冷凍保存的 PBMC 解凍、洗滌，然後經受流式細胞儀分析。在抗體培育之前，在室溫下將細胞用 10%食蟹獼猴血清(Abcam)處理 15 分鐘以減少非特異性結合。將抗-TIM-3 或 IgG 同種型對照抗體(10 點劑量滴定，20,000 ng/ml 至 0.6 ng/ml)添加至個別樣品中並且在 4°C 下培育 30 分鐘。將樣品洗滌兩次並且將在緩衝液(PBS, 2 mM EDTA, 0.5% BSA, pH 7.2)中稀釋的含有 2.5 µg/ml 之 FITC-偶聯之抗-κ 抗體以及抗-CD11b(BV785, M1/70)的抗體混合物添加至各樣品中並且在 4°C 下培育 30

分鐘。將樣品洗滌兩次並且使用 LSRFortessa 流式細胞儀 (BD Biosciences) 進行分析。流式細胞術圖表使用 FACS DIVA 及 WEHI Weasel 軟體之組合進行分析。

[0328] 如圖 5 示出，抗-TIM-3 抗體 pab2188 以劑量依賴性方式結合初級食蟹獼猴骨髓細胞。

6.1.6 抗-TIM-3 抗體之配位體阻斷活性

[0329] 將抗-TIM-3 抗體針對其阻斷重組人類或食蟹獼猴 TIM-3 結合至由經照射之 WR19L 鼠科淋巴瘤細胞表現之磷脂醯絲胺酸的能力來進行測試。在室溫下，將抗-TIM-3 或 IgG 同種型對照抗體(對於人類，9 點劑量滴定，20,000 ng/ml 至 70 ng/ml；或對於食蟹獼猴，6 點劑量滴定，20,000 ng/ml 至 625 ng/ml)與在 1X 膜聯蛋白-V 結合緩衝液(調整至 pH 7.4 之 10 mM Hepes、140 mM NaCl 及 2.5 mM CaCl₂)中製備之重組人類 TIM-3 Fc(R&D Systems, # 2365-TM)或重組食蟹獼猴 TIM-3 Fc(R&D Systems, # 7914-TM)(10,000 ng/ml)一起培育 30 分鐘。將在 20 Gy 下照射並重新懸浮在 1X 膜聯蛋白-V 結合緩衝液中之 WR19L 細胞在 1×10^6 個細胞/毫升之最終密度下添加至抗-TIM-3:TIM-3-Fc 混合物中並且在室溫下培育 45 分鐘。將樣品洗滌一次並且將含有在 1X 膜聯蛋白-V 結合緩衝液中稀釋之 PE-接合抗-Fc 抗體(1:100 稀釋)以及活力染劑(Biolegend, NIR 通道；1:1000 稀釋)的抗體混合物添加至各樣品中並且在室溫下培育 20 分鐘。隨後將樣品在 1X 膜

聯蛋白-V 結合緩衝液中洗滌一次，重新懸浮在 150 μ l 緩衝液(PBS, 2 mM EDTA, 0.5% BSA, pH 7.2)中並且使用 LSRFortessa 流式細胞儀(BD Biosciences)進行分析。使用 FACS DIVA 分析流式細胞術圖。

[0330] 抗-TIM-3 抗體 pab2085 及 pab2188 阻斷重組人類 TIM-3(圖 6A)及重組食蟹獼猴 TIM-3(圖 6B)結合至磷脂醯絲胺酸。

6.1.7 抗-TIM-3 抗體對於葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之後的人類 PBMC 之作用

[0331] 在葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之後，評估輕鏈優化之變異體對於初級人類 PBMC 之功能活性。簡言之，在 96 孔 NUNC LON δ 平板(NUNC™)中，將冷凍保存的人類 PBMC(Research Blood Components)以 1×10^5 個細胞/孔塗佈在補充有 Normocin™(Invivogen #ant-nr)及 10% 熱滅活 FBS(Gibco, Invitrogen Corporation)之 RPMI1640 中。在 37°C 及 5% CO₂ 下，細胞在 5 μ g/ml 之抗-PD-1 抗體派姆單抗(批料 7002688300, Myoderm)、抗-TIM-3 抗體(10 μ g/ml)及 SEA 超抗原(100 ng/ml, Toxin Technologies)存在下培養 6 天。收集無細胞上清液並儲存在 -80°C 下直至分析為止。使用 AlphaLISA(Perkin Elmer)測定 IFN γ 水準。

[0332] 當與抗-PD-1 抗體派姆單抗組合時，輕鏈優化之變異體在此初級人類 PBMC 檢定(圖 7)中增強 IFN γ 產

生。

[0333] 將 pab2188w 之功能活性在 SEA 刺激檢定中使用修改的實驗程序來分析。在 96 孔 NUNCTM δ 平板(NUNCTM)中，將冷凍保存的人類 PBMC(Research Blood Components)以 1×10^5 個細胞/孔塗覆在補充有 NormocinTM (Invivogen #ant-nr)及 10%熱滅活 FBS (Gibco, Invitrogen Corporation)之 RPMI1640 中。在 37°C 及 5% CO₂ 下，細胞在 5 µg/ml 之抗-PD-1 抗體派姆單抗(批料 7002688300, Myoderm)、抗-TIM-3 抗體(10 µg/ml)及 SEA 起抗原(100 ng/ml, Toxin Technologies)存在下培養 9 天。接著將細胞洗滌一次並且用新鮮 SEA 及抗體再刺激 2 天。收集無細胞之上清液並儲存在 -80°C 下直至分析為止。使用 AlphaLISA(Perkin Elmer)測定 IFN γ 水準。

[0334] 如圖 8A-8F 示出，單獨或與抗-PD-1 抗體派姆單抗組合的抗-TIM-3 抗體 pab2188w(IgG₁ N297A)在此 SEA 刺激檢定中增強來自多個供體之人類 PBMC 中之 IFN γ 產生。

6.2 實例 2：使用 CDR 誘變來優化抗-TIM-3 抗體

[0335] 為了改良結合親和力，使用重鏈及輕鏈可變區之 CDR 殘基的定向誘變來修飾抗-TIM-3 抗體 pab2188w。簡言之，基於親本抗體 pab2188w 來產生六個 Fab 噬菌體呈現文庫，各自含有使用 NNK 簡並密碼子隨機化來修飾之 CDRH 或 CDRL 區域。Fab 噬菌體文庫經受

相對於重組人類及食蟹獼猴 TIM-3 抗原之親和力驅動選擇。基於結合及解離速率量測結果來選擇稱為 AM-1、AM-2、AM-3、AM-4、AM-5、AM-6、AM-7、AM-8 及 AM-9 之九個純系。此九個純系之可變區之序列資訊在總結於表 4 中。所有此等變異體共用 pab2188w 之輕鏈但含有突變重鏈 CDR1。AM-1 至 AM-9 表現為含有 IgG₁ N297A Fc 區之全長抗體並且在以下描述之實驗中分析。

6.2.1 抗-TIM-3 抗體結合至 TIM-3-表現細胞

[0336] 在流式細胞術分析中，將抗體 AM-1 至 AM-9 結合至異位表現人類 TIM-3 之 Jurkat 細胞與親本抗體 pab2188w 之結合進行比較。如圖 9A 示出，結合至 TIM-3-表現 Jurkat 細胞之所有變異體及 AM-2 及 AM-6 顯示比親本抗體 pab2188w 更強的結合。AM-2 及 AM-6 之結合藉由流式細胞術使用 Kasumi-3(ATCC[®] CRL-2725[™])，內源性表現 TIM-3 之人類急性骨髓性白血病細胞株(圖 9B)，以及用葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之人類 CD8+T 細胞(圖 9C)及用 SEA 刺激之食蟹獼猴 CD8+T 細胞(圖 9D)來進一步分析。對於結合至人類 CD8+T 細胞，在 37°C 及 5%CO₂ 下，在補充有 10%熱滅活 FBS 之 RPMI 培養基中，將經由聚蔗糖梯度自健康供體膚色血球層(Research Blood Components, LLC)分離之人類 PBMC 用 SEA(100 ng/ml)活化 8 天。活化之後，在室溫下，將細胞與人類 Fc 受體阻斷劑一起培育 15 分鐘以減少非特異性結合(FcR 阻斷劑，

Biolegend)。將抗-TIM-3 或 IgG 同種型對照抗體(12 點劑量滴定，10,000 ng/ml 至 0.06 ng/ml)添加至個別樣品中並且在 4°C 下培育 30 分鐘。類似地，對於結合至食蟹獼猴 CD8+T 細胞，將分離的食蟹獼猴 PBMC 由冷凍基料(Worldwide Primates Inc.)解凍並且在 37°C 及 5% CO₂ 下，在補充有 10%熱滅活 FBS 之 RPMI 培養基中，用 SEA(100 ng/ml)活化五天。在室溫下，活化食蟹獼猴 PBMC 與人類 Fc-受體阻斷劑(FcR 阻斷劑，Biolegend)及食蟹獼猴血清(Abcam)之組合一起培育 15 分鐘以減少非特異性結合。將藻紅蛋白偶聯之 AM-2 抗體或同種型對照抗體(Biolegend PE 偶聯，6 點劑量滴定，10,000 ng/ml 至 41 ng/ml)及各自 2.5 µg/ml 之抗 CD4 抗體(BV605，OKT4)及抗 CD8a 抗體(PE，SK1)之混合物在緩衝液(PBS，2 mM EDTA，0.5% BSA，pH 7.2)中稀釋，添加至每個樣品，並且在 4°C 下培育 30 分鐘。將樣品洗滌兩次並且含有全部為 2.5 µg/ml 之 FITC 偶聯抗-κ 抗體以及抗 CD3(BV711，OKT3)、抗 CD4(BV605，OKT4)及抗 CD8a(PE，RPA-T8 之抗體混合物在緩衝液(PBS，2 mM EDTA，0.5% BSA，pH 7.2)中稀釋，添加至各樣品中並且在 4°C 下培育 30 分鐘。將樣品洗滌兩次並且使用 LSRFortessa 流式細胞儀(BD Biosciences)來分析。使用 FACS DIVA 及 WEHI Weasel 軟體之組合來分析流式細胞術圖。AM-2 及 AM-6 展示結合至 Kasumi-3 細胞(圖 9B)及活化人類 CD8+T 細胞(圖 9C)。AM-2 亦展示結合至活化食蟹獼猴 CD8+T 細胞(圖 9D)。

[0337] 隨後，在類似檢定中，結合至初級人類及食蟹獼猴 CD14+骨髓細胞藉由流式細胞術使用藻紅蛋白(PE)偶聯之 pab2188w、AM-2 或同種型對照抗體來分析。簡言之，將由人類或食蟹獼猴(Worldwide Primates, Inc.)中分離之冷凍保存的 PBMC 解凍、洗滌，隨後經受流式細胞儀分析。在抗體培育之前，在室溫下將細胞用 10%食蟹獼猴血清(Abcam, Cat# ab155109)處理 15 分鐘以減少非特異性結合。在含有抗 CD14 抗體(APC, M5E2)及 Zombie Green™ 可固定生存力標記之抗體混合物中，將 PE 偶聯之抗-TIM-3 或 IgG 同種型對照抗體(12 點劑量滴定，對於人類 PBMC 為 10,000 ng/ml 至 0.05 ng/ml 並且對於食蟹獼猴 PBMC 為 100,000 ng/ml 至 0.5 ng/ml)添加至個別樣品，隨後在 4°C 下培育 30 分鐘。留出額外樣品用於單一染色補償控制(CD45-FITC、CD45-PE 及 CD45-APC；純系 MB4-6D6，Miltenyi)。將樣品在緩衝液中洗滌兩次並且使用 LSRFortessa 流式細胞儀(BD Biosciences)來分析。流式細胞術圖表使用 FACS DIVA 及 WEHI Weasel 軟體之組合來分析。與親本抗體 pab2188w 相比，AM-2 顯示更強的結合至人類(圖 9E)及食蟹獼猴(圖 9F)CD14+骨髓細胞。

6.2.2 抗-TIM-3 抗體之選擇性檢定

[0338] 將 AM-2 及 AM-6 對於 TIM-3 之選擇性使用懸浮陣列技術來評估。經由與 COOH 珠粒表面之胺偶聯，Luminex®微球與重組人類 TIM-3 His (Sino Biological, #

10390-H08H)、重組食蟹獼猴 TIM-3 Fc(Sino Biological, # 90312-C02H)、重組小鼠 TIM-3 Fc(R&D Systems, # 1529-TM)、重組人類 TIM-1 His(R&D Systems, # 1750-TM)、重組人類 TIM-4 His(R&D, # 2929-TM)、重組人類 OX40 His(Sino Biological, # 10481-H08H)、重組人類 GITR Fc(R&D Systems, # 689-GR)、重組人類 DR3 Fc(R&D Systems, # 943-D3)及重組人類 CD137 Fc(室內生產材料)偶聯。純化 pab2188w(IgG₁ N297A)、AM-2(IgG₁ N297A)、AM-6(IgG₁ N297A)及 IgG₁N297A 同種型對照抗體在檢定緩衝液(Roche 11112589001)中稀釋至 10000 ng/ml 至 0.1ng/ml 之劑量滴定。在 96 半孔濾板(Millipore, MABVN1250)中, 每個稀釋液(25 µl)在黑暗中(20°C, 650 rpm)與 5 µl 檢定緩衝液中之 1500 Luminex®微球一起培育 1 小時。使用以 R-PE(2.5 µg/ml; JIR 109-116-097)標記之 60 µl 山羊抗人類 IgGF(ab)₂ 及再培育 1 小時(20°C, 650 rpm)來執行偵測。板使用 Luminex®200 系統(Millipore)來分析。在 48 µl 樣品體積中, 每孔計數總共 100 個珠粒。將 PE MFI 值用於判定特異性或非特異性結合至重組蛋白。

[0339] 抗-TIM-3 抗體 pab2188w(圖 10B)、AM-2(圖 10C)及 AM-6(圖 10D)顯示特異性結合至人類及食蟹獼猴 TIM-3, 並且在所測試的濃度下, 未偵測到顯著結合至小鼠 TIM-3、人類 TIM-1、人類 TIM-4、人類 OX40、人類 GITR、人類 DR3 或人類 CD137。

6.2.3 抗-TIM-3 抗體之配位體阻斷活性

[0340] 將抗-TIM-3 抗體 AM-2 及 AM-6 針對其阻斷磷脂醯絲胺酸結合至人類或食蟹獼猴 TIM-3 之能力來進一步分析。在室溫下，將抗-TIM-3 或 IgG 同種型對照抗體(10 點劑量滴定，40,000 ng/ml 至 1000 ng/ml)與在 1X 膜聯蛋白-V 結合緩衝液(調整至 pH 7.4 之 10 mM Hepes、140 mM NaCl 及 2.5 mM CaCl₂)中製備之重組人類 TIM-3 Fc(R&D Systems, # 2365-TM)或重組食蟹獼猴 TIM-3 Fc(R&D Systems, # 7914-TM)(10,000 ng/ml)一起培育 30 分鐘。將在 20 Gy 下照射並重新懸浮於 1X 膜聯蛋白-V 結合緩衝液中之 WR19L 細胞在 1×10^6 個細胞/毫升之最終密度下添加至抗-TIM-3 : TIM-3-Fc 混合物並且在室溫下培育 45 分鐘。將樣品洗滌一次並且將含有在 1X 膜聯蛋白-V 結合緩衝液中稀釋之 PE-偶聯抗-Fc 抗體(1:100 稀釋)以及生存力染劑(Biolegend, NIR 通道；1:1000 稀釋)的抗體混合物添加至各樣品中並且在室溫下培育 20 分鐘。然後將樣品在 1X 膜聯蛋白-V 結合緩衝液中洗滌一次並且使用 LSRFortessa 流式細胞儀(BD Biosciences)來分析。流式細胞術圖表使用 FACS DIVA 來分析。

[0341] 如圖 11A 及 11B 示出，抗-TIM-3 抗體 pab2188w、AM-2 及 AM-6 有效地阻斷人類或食蟹獼猴 TIM-3 結合至磷脂醯絲胺酸表現細胞。

6.2.4 抗-TIM-3 抗體對於葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之後的人類 PBMC 之作用

[0342] 將 pab2188w 之變異體之功能活性使用藉由葡萄球菌腸毒素 A(SEA)刺激之初級人類 PBMC 來分析。簡言之，在 96 孔 NUNCLON δ 平板(NUNC™)中，將冷凍保存的人類 PBMC(Research Blood Components)以 1×10^5 個細胞/孔塗覆在補充有 Normocin™ (Invivogen #ant-nr)及 10% 熱滅活 FBS(Gibco, Invitrogen Corporation)之 RPMI1640 中。在 37°C 及 5% CO₂ 下，將細胞在 5 μ g/ml 之抗-PD-1 抗體派姆單抗(批料 7002688300, Myoderm)、抗-TIM-3 抗體(10 μ g/ml)及 SEA 超抗原(100 ng/ml, Toxin Technologies)存在下培養 9 天。然後將細胞洗滌一次並且用新鮮 SEA 及抗體再刺激 2 天。收集無細胞上清液並儲存在 -80°C 下直至分析為止。使用 AlphaLISA(Perkin Elmer)測定 IFN γ 水準。

[0343] 如圖 12A 及 12B 示出，單獨或與抗-PD-1 抗體派姆單抗組合的 pab2188w 之許多變異體增強來自兩個不同供體之人類 PBMC 中之 IFN γ 產生。

6.2.5 抗-TIM-3 抗體對於腫瘤浸潤淋巴細胞之細胞因子產生的作用

[0344] 將抗-TIM-3 抗體針對其單獨或與抗-PD-1 抗體組合來刺激活化初級腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)之細胞因子產生的能力進行進一步評估。來自新鮮非小細胞肺癌

(NSCLC)(階段 II)、膽囊腺癌(階段 IV)或乳腺癌(階段 II)腫瘤(UMass Medical School, Worcester, MA)之單細胞懸浮液經由機械顯微解剖來分離。在一些情況下，視纖維化水準而定，酶消化為必需的(Liberase and DNaseI, Roche)。在 96 孔 NUNCLON δ 平板(NUNC™)中，細胞以 5×10^4 個細胞/孔在補充有 Normocin™(Invivogen #ant-nr)、重組人類 IL-2(20 U/ml, R&D Systems)及 10% 熱滅活 FBS (Gibco, Invitrogen Corporation)之 RPMI1640 中靜置 1 天。第二天，將樣品離心並且將含有所關注抗體(20 $\mu\text{g/ml}$ 之抗-TIM-3 抗體及 5 $\mu\text{g/ml}$ 之抗-PD-1 抗體派姆單抗)及抗 CD3/CD28 微珠(1:1 珠粒:細胞比率)之新鮮培養基以 100 μl 之最終體積添加並且允許在 37°C 及 5% CO_2 下培育 3 天。收集無細胞上清液並儲存在 -80°C 下直至分析為止。使用 AlphaLISA(Perkin Elmer)測定 $\text{IFN}\gamma$ 及 $\text{TNF}\alpha$ 水準。

[0345] 如圖 13A-13F 示出，抗-TIM-3 抗體增強來自 NSCLC、膽囊腺癌或乳腺癌腫瘤之活化初級 TIL 之 $\text{IFN}\gamma$ 及 $\text{TNF}\alpha$ 產生。

6.2.6 抗-TIM-3 抗體在結合之後的內化

[0346] 在此實例中，對抗-TIM-3 抗體向細胞中之內化進行分析。在第一組實驗中，使用 $\alpha\text{HFc-NC-DM1}$ (藉由不可裂解連接子來接合至美登醇 DM1 之抗人類 IgG Fc 抗體，Moradec LLC)評估抗-TIM-3 抗體內化。此次級抗體藥物接合物 $\alpha\text{HFc-NC-DM1}$ 結合至測試抗體(例如，抗-

TIM-3 抗體)並且導致在內化之後，細胞毒性酬載 DM1 釋放至細胞之胞質中。在第二組實驗中，使用直接接合至單甲奧里斯他汀 E(MMAE)之抗-TIM-3 抗體 pab2188w(IgG₁ N297A)及 Hum11(IgG₄ S228P)評價內化。各抗體展示類似藥物-抗體比率(DAR；同種型對照=3.5，pab2188w=4.0，Hum11=3.0)，從而在內化之後，支援相等水準之抗體-藥物接合物(ADC)遞送。在第三組實驗中，藉由用細胞不可滲透性螢光染料來標記之 TIM-3 蛋白之亞細胞定位評估內化。

[0347] 簡言之，Kasumi-3(ATCC® CRL-2725™)，一種內源性表現 TIM-3 之急性骨髓性白血病細胞株，以及經工程化以過度表現 TIM-3 之 Jurkat 細胞株以 2×10^4 /孔之密度塗覆在白底組織培養板中。對於使用次級抗體藥物接合物 α HFc-NC-DM1 之第一組實驗，將 8 點劑量滴定(3,333ng/ml 至 1ng/ml)的與 α HFc-NC-DM1(與初級抗體 1:1)一致之抗-TIM-3 抗體或 IgG 同種型對照抗體以 100 μ l/孔之最終體積添加至細胞。在 37°C 及 5% CO₂ 下，將細胞與初級抗體及次級抗體藥物接合物一起培育 72 小時。

[0348] 在 α HFc-NC-DM1 實驗中，與參考抗-TIM-3 抗體 Hum11(IgG₄ S228P)及 pab1944w(IgG₁ N297A)相比，抗-TIM-3 抗體 pab2188w(IgG₁ N297A)、AM-2(IgG₁ N297A)及 AM-6(IgG₁ N297A)更有效地內化在 Jurkat 細胞(圖 14A)及 Kasumi-3 細胞(圖 14B)上表現之 TIM-3，如在廣泛範圍之抗體濃度下細胞存活之較大減少所證明。

[0349] 對於第二組實驗，將抗體 pab2188w(IgG1 N297A)及 Hum11(編號 IgG4 S228P)直接接合至類似濃度之 MMAE 以考慮到次級藥物接合物(α HFc-NC-DM1)結合抗體之不同 Fc 區之傾向的可能差異。將 9 點劑量滴定(6,666 ng/ml 至 1 ng/ml)之 MMAE 接合的抗-TIM-3 抗體或 MMAE 接合的 IgG 同種型對照抗體以 100 μ l/孔之最終體積添加至細胞中。在 37°C 及 5% CO₂ 下，將細胞與接合抗體一起培育 72 小時。培育之後，將 90 μ l 之重構 Cell Titer Glo(Promega)添加至各孔中並且在室溫下培育細胞 5 分鐘。使用 Envision 儀器(Perkin Elmer)記錄所得螢光。

[0350] 如圖 14C 示出，抗體 pab2188w(IgG1 N297A)比抗體 Hum11(編號 IgG4 S228P)誘導細胞存活之更大減少，指示對於次級抗體藥物接合物所觀察到的作用(例如在圖 14A 中示出)可歸因於每個 TIM-3 抗體之內化潛力。

[0351] 在第三組實驗中，藉由活細胞之共焦螢光顯微術分析抗-TIM-3 抗體之內化。在 37°C 及 5% CO₂ 下，將表現 HaloTag-TIM-3 融合蛋白之 Jurkat 細胞首先與 1 μ M Violet Proliferation Dye 450 (BD)一起培育 30 分鐘。培育之後，在 PBS 中洗滌細胞並且重新懸浮於細胞培養基中。為了偵測 TIM-3 之細胞外域，在 37°C 及 5% CO₂ 下，將 Jurkat HaloTag-TIM-3 細胞用膜不可滲透性 HaloTag Alexa Fluor 488 配位體(Promega, 1 μ M)染色 15 分鐘。接著，將細胞重新懸浮於新鮮培養基中並且與抗-TIM-3 抗體 AM-2(IgG1 N297A)或同種型對照(每個抗體為

10 $\mu\text{g/ml}$)一起塗於 384 孔顯微板中(15,000 個細胞/孔)中。在環境控制(37°C 及 5% CO_2)下，使用 ImageXpress Micro Confocal High-Content 顯微鏡(Molecular Devices)收集現場影像並且在 3.5 小時期間每 30 分鐘獲取影像。使用 MetaXpress 分析軟體(Molecular Devices)執行影像分析。Jurkat 細胞係由 DAPI 通道(Violet Proliferation Dye 450)中識別並且由 FITC 通道(HaloTag Alexa Fluor 488)針對每個細胞定量內化的 TIM-3 信號之量。

[0352] 如圖 15 示出，相對於與同種型對照抗體一起培育之細胞，對於與抗-TIM-3 抗體 AM-2 一起培育之細胞，觀察到隨著時間推移的 TIM-3 內化之增加。具體而言，在 3.5 小時之後，與用同種型對照抗體處理之 TIM-3-陽性細胞相比，AM-2 抗體處理導致兩倍百分比之 TIM-3-陽性細胞展示 TIM-3 內化(即，相應地 15.1%內化相較於 7.2%內化)。此外，在 3.5 小時，與用同種型對照抗體處理之細胞相比，對於 AM-2 抗體處理之細胞所觀察到的內化信號顯著更高($p=0.00027$ ，單尾 T 測試)。在 0 小時時間點，沒有統計上的顯著差異($p=0.91$ ，單尾 T-測試)。

6.3 實例 3：抗-TIM-3 抗體之表位映射

[0353] 在此實例中，抗-TIM-3 抗體 pab2188(IgG₁ 變異體)、pab2187(IgG₁ 變異體)及 AM-2(IgG₁ N297A)之表位得以表徵。

6.3.1 使用丙胺酸掃描之抗-TIM-3 抗體之表位映射

[0354] 藉由丙胺酸掃描評估抗-TIM-3 抗體 pab2188 (IgG₁ 變異體)及 pab2187(IgG₁ 變異體)之結合特徵。簡言之，將來自 Agilent Technologies 之 QuikChange HT 蛋白質工程系統(Cat# G5901A)用於生成在細胞外域中具有丙胺酸取代之人類 TIM-3 突變體。使用逆轉錄病毒轉導將人類 TIM-3 突變體在鼠科 1624-5 前 B 細胞之表面上表現。表現人類 TIM-3 之細胞之轉導效率或百分比保持在低於 5%以確保大多數細胞不表現兩種或兩種以上不同的 TIM-3 突變體。

[0355] 如在流式細胞術中藉由結合至多株抗-TIM-3 抗體(R&D Systems, Cat# AF2365)所證明，表現正確折疊之人類 TIM-3 突變體之細胞進一步被選擇用於亞群，該亞群表現不結合單株抗-TIM-3 抗體 pab2188(IgG₁ 變異體)或 pab2187(IgG₁ 變異體)之人類 TIM-3 突變體。藉由製備型高速 FACS(FACSAriaII, BD Biosciences)將展示特異性抗體結合之細胞自非結合細胞群中分離。將抗體反應性或非反應性細胞池在組織培養物中再次擴增並且重複抗體指導之細胞分選及組織培養擴增之循環直至獲得明確可偵測之抗-TIM-3 抗體(pab2188(IgG₁ 變異體)或 pab2187(IgG₁ 變異體))非反應性細胞群為止。此抗-TIM-3 抗體(pab2188(IgG₁ 變異體)或 pab2187(IgG₁ 變異體))非反應性細胞群經受最終的單細胞或整體分選步驟。在幾天細胞擴增之後，使用流式細胞術，將單細胞或整體分選細胞再次針對結合至多

株抗-TIM-3 抗體以及不結合至單株抗體 pab2188(IgG₁ 變異體)或 pab2187(IgG₁ 變異體)進行測試。

[0356] 為了將表型與基因型相關聯，對於表現人類 TIM-3 突變體之整體分選細胞執行 NGS 測序。序列分析顯示對於多株抗-TIM-3 抗體具有反應性但不對單株抗-TIM-3 抗體 pab2188(IgG₁ 變異體)或 pab2187(IgG₁ 變異體)具有反應性之細胞表現一種人類 TIM-3 突變體，其中位置 40 由 Phe 突變為 Ala，根據 SEQ ID NO: 79 所編號。

6.3.2 使用氫-氘交換(HDX)質譜術之抗-TIM-3 抗體之表位映射

[0357] 在第一研究中，使用氫-氘交換(HDX)質譜術來研究 pab2188(IgG₁ 變異體)與人類 TIM-3 之相互作用。

[0358] 對於去糖基化處理，在 37°C 下將 250 µg 之重組人類 TIM-3/Fc 嵌合體(R&D Systems, Cat# 2365-TM)與 4 µl 之 PNG 酶 F 一起培育 3 小時。人類 TIM-3/Fc 嵌合體包含融合至人類 IgG₁ 之 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列。

[0359] 對於胃蛋白酶消化，將 115 µl 對照緩衝液(50 mM 磷酸鹽，100 mM 氯化鈉，pH 7.4)中之 6.9 µg 天然或去糖基化之人類 TIM-3/Fc 嵌合體藉由添加 115 µl 之 4M 鹽酸胍、0.85 M TCEP 緩衝液(最終 pH 2.5)並且在 10°C 下培育混合物 3 分鐘來變性。接著，使混合物經受使用內部填充胃蛋白酶管柱之管柱上胃蛋白酶消化並且將所得肽使用包含耦接至 Q Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap

質譜儀(Thermo)之 Waters Acquity UPLC 的 UPLC-MS 系統來分析。該等肽在具有 2-32%溶劑 B 之 20.5 分鐘梯度(乙腈中之 0.1%甲酸)的 50 mm x 1 mm C8 管柱上分離。經由使用 Mascot 軟體對人類 TIM-3 序列搜索 MS/MS 資料進行肽識別。前驅物及產物離子之質量容差分別為 20 ppm 及 0.05 Da。

[0360] 將 10 μ l 天然或去糖基化之人類 TIM-3/Fc 嵌合體(6.9 μ g)、10 μ l 天然人類 TIM-3/Fc 嵌合體及抗體混合物(6.9 μ g: 12.9 μ g)或 10 μ l 去糖基化之人類 TIM-3/Fc 嵌合體及抗體混合物(6.9 μ g:12.9 μ g)與 105 μ l 氧化氬標記緩衝液(50 mM 磷酸鹽, 100 mM 氯化鈉, pH 7.4)一起培育 0 秒、60 秒、300 秒、1800 秒、7200 秒、14400 秒及 28800 秒。在 10°C 下, 對於天然人類 TIM-3/Fc 嵌合體及其與抗體之複合物進行氬交換, 或在 4°C 下對於去糖基化之人類 TIM-3/Fc 嵌合體及其與抗體之複合物進行氬交換。藉由添加 115 μ l 之 4 M 鹽酸胍、0.85 M TCEP 緩衝劑(最終 pH 2.5)中止氬交換。後來, 中止樣品經受管柱上之胃蛋白酶消化及如上所述之 LC-MS 分析。僅在 MS 模式下記錄質譜。為了計算氬併入, 在所提取之離子層析峰中, 將給定肽之質譜加以組合, 並且計算加權平均 m/z 。自天然肽之質量(0 分鐘)至加權平均質量之質量增加對應於氬併入水準。

[0361] 對於天然及去糖基化之人類 TIM-3 所達成的序列覆蓋率分別為 71.6%及 98.4%。雖然在具有及不

具有抗人類 TIM-3 抗體的情況下，大多數人類 TIM-3 肽展示相同或類似氘水準，但發現多個肽區段在抗體結合之後具有顯著減少之氘併入。在由 SEQ ID NO: 94 (VCWGKGACPVFECGNVVL)之胺基酸序列組成的區域及由 SEQ ID NO: 95(RIIPGIMND)之胺基酸序列組成之區域處結合至抗人類 TIM-3 抗體 pab2188(IgG₁ 變異體)之後，天然及去糖基化之人類 TIM-3 顯示氘吸收之顯著減少。在由 SEQ ID NO: 93(PVFECGN)之胺基酸序列組成之區域處，觀察到氘吸收之最強減少。

[0362] 隨後，在與如上所述之研究相似的 HDX 質譜術研究中，研究 AM-2(IgG₁ N297A)與人類 TIM-3 之相互作用。簡言之，在氧化氘中，單獨或與抗人類 TIM-3 抗體 AM-2(IgG₁ N297A)組合培育去糖基化之人類 TIM-3/Fc 嵌合體。氘交換在 10°C 下進行 0 秒、60 秒、300 秒、1800 秒、7200 秒及 14400 秒。交換反應藉由低 pH 來中止並且中止樣品經受管柱上之胃蛋白酶/蛋白酶 XIII 或蛋白酶 XVIII 消化及如上所述之 LC-MS 分析。原始 MS 資料係使用 HDX WorkBench(一種用於分析 H/D 交換 MS 資料之軟體)來處理(J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2012, 23 (9), 1512-1521，其全部以引用方式併入本文)。使用氘化肽與其天然形式之間之平均質量差異(t_0)計算氘水準。

[0363] 對於去糖基化之人類 TIM-3 達成百分之百序列覆蓋率。抗-TIM-3 抗體 AM-2(IgG₁ N297A)顯示與 pab2188(IgG₁ 變異體)展示之結合模式相似的結合模式。

當去糖基化之人類 TIM-3 結合至抗-TIM-3 抗體 AM-2(IgG₁ N297A)時，兩個區域，亦即由 SEQ ID NO: 94(VCWGKGACPVFECGNVVL)之胺基酸序列組成的一個區域以及由 SEQ ID NO: 96(RIPGIMNDEKFNLL)之胺基酸序列組成的另一個區域經歷強有力的氬保護。在由 SEQ ID NO: 93(PVFECGN)之胺基酸序列組成之區域處，觀察到最強減少。

6.3.3 使用 Pepscan 分析之抗-TIM-3 抗體之表位映射

[0364] 抗-TIM-3 抗體 pab2188(IgG₁ 變異體)之結合係針對作為晶片結合肽陣列所製備之合成 TIM-3 相關肽片段進行量測。藉由 Pepscan Presto BV, Lelystad, the Netherlands 執行分析。簡言之，為了重構人類 TIM-3 之表位，合成肽文庫。藉由以下過程獲得胺基官能化之聚丙烯支撐物：用專有親水性聚合物調配物接枝，繼之使用二環己基碳二亞胺(DCC)與 N-羥基苯并三唑(HOBT)來與第三丁氧羰基-己二胺(BocHMDA)反應，隨後使用三氟乙酸(TFA)裂解 Boc 基團。藉由定製經改良之 JANUS 液體處置站(Perkin Elmer)，將標準 Fmoc-肽合成用於在胺基官能化之固體支撐物上合成肽。結構模擬物之合成使用 Pepscan 之專有支架化學鍵合肽(CLIPS)技術來進行。CLIPS 技術允許將肽結構化成單環、雙環、三重環、薄片樣折疊、螺旋樣折疊及其組合。抗體與合成肽中之每一者之結合在基於 PEPSCAN 之 ELISA 中測試。在 4°C 下，肽陣列與初級

抗體溶液一起培育隔夜。洗滌之後，在 25℃ 下，肽陣列與山羊抗人類 HRP 接合物(Southern Biotech, Cat# 2010-05)一起培育 1 小時。洗滌之後，添加過氧化物酶受質 2,2'-次偶氮基-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸酯(ABTS)及 2 μ l/ml 之 3% H_2O_2 。1 小時之後，量測顯色並且使用電荷耦合裝置(CCD)-攝影機及影像處理系統來量化。

[0365] Pepscan 研究顯示抗-TIM-3 抗體 pab2188(IgG₁變異體)識別人類 TIM-3 之片段，包括由 SEQ ID NO: 99 (GKGACPVFE)之胺基酸序列組成之區域及由 SEQ ID NO: 100(DFTAAFPR)之胺基酸序列組成之區域。

* * *

[0366] 本發明在範疇上不受本文所述之具體實施例的限制。實際上，除本文所述之修改外，熟習此項技術者亦將由以上描述及隨附圖式而顯而易知本發明之各種修改。此類修改意欲屬於隨附申請專利範圍之範疇內。

[0367] 本文引用之所有參考(例如，公開案或專利或專利申請案)全部並且出於所有目的以引用方式併入本文，其引用程度如同每個個別參考(例如，公開案或專利或專利申請案)特定地及個別地指示出於所有目的全部以引用方式併入一般。

[0368] 其他實施例在以下申請專利範圍內。

序列表

<110> 艾吉納斯公司(Agenus Inc.)

<120> 抗-TIM-3 抗體及其使用方法

<140> TW 106117694

<141> 2017-05-26

<150> US 62/342,610

<151> 2016-05-27

<150> US 62/420,276

<151> 2016-11-10

<160> 102

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD456-2919 CDRH1

<400> 1

Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 2

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD456-2919 CDRH2

<400> 2

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

1 5 10

<210> 3

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD456-2919 CDRH3

<400> 3

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp
1 5 10

<210> 4
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-1 CDRH1

<400> 4

Lys Ala Gly Gln Ser Ser
1 5

<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-2 CDRH1

<400> 5

Arg Gln Asn Ala Trp Ser
1 5

<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-3 CDRH1

<400> 6

Met Ser Gly Gln Thr Ser
1 5

<210> 7
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-4 CDRH1

<400> 7

Gly Ala Gly Gln Ser Ser
1 5

<210> 8

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> AM-5 CDRH1

<400> 8

Ser Ala Gln Gln Ala Ser
1 5

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> AM-6 CDRH1

<400> 9

Ala Arg Asn Ala Trp Ser
1 5

<210> 10

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> AM-7 CDRH1

<400> 10

Arg Ser Gln Gln Ala Ser
1 5

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> AM-8 CDRH1

<400> 11

Thr Thr Gln Gln Ala Ser
1 5

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> AM-9 CDRH1

<400> 12

Gly Gly Gln Gln Ala Ser
1 5

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD197-1181 CDRL1

<400> 13

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD412-2513 CDRL1

<400> 14

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD456-2928 CDRL1

<400> 15

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Asn	Tyr	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 16

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD466-3169 CDRL1

<400> 16

Gly	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ala
1				5					10		

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD197-1181 CDRL2

<400> 17

Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr
1			5			

<210> 18

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD456-2928 CDRL2

<400> 18

Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Gln	Ser
1				5		

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> BADD466-3165 CDRL2

<400> 19

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
1 5

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD466-3166 CDRL2

<400> 20

Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD466-3167 CDRL2

<400> 21

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD197-1181 CDRL3

<400> 22

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD392-2234 CDRL3

<400> 23

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 24
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD456-2919 VH

<400> 24

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 25
<211> 120
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD466-3162 VH

<400> 25

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 26

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD466-3163 VH

<400> 26

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 27
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-1-VH

<400> 27

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 28
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-2-VH

<400> 28

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 29
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> AM-3-VH

<400> 29

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 30
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> AM-4-VH

<400> 30

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 31
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-5-VH

<400> 31

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 32
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-6-VH

<400> 32

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 33
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-7-VH

<400> 33

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 34
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-8-VH

<400> 34

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-9-VH

<400> 35

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

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

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

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50

55

60

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 36
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD197-1181 VL

<400> 36

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

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

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

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

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

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

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

<210> 37
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> BADD412-2513 VL

<400> 37

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

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

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

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

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

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

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

<210> 38
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> BADD456-2928 VL

<400> 38

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr

	20		25		30
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln
	35			Lys	Pro
				40	Gly
					Lys
					Val
					Pro
					45
					Lys
					Leu
					Leu
					Ile

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

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

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

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

<210> 39
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> BADD466-3164 VL

<400> 39

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

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

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

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

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

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

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

<210> 40
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD466-3165 VL

<400> 40

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

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

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

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

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

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

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

<210> 41
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD466-3166 VL

<400> 41

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

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

<210> 42
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> BADD466-3167 VL

<400> 42

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

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

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

<210> 43
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD466-3168 VL

<400> 43

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

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

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

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

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

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

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

<210> 44
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD466-3169 VL

<400> 44

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

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

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

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

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

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

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

<210> 45

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD466-3170 VL

<400> 45

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

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

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

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

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

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

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

<210> 46
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> BADD466-3171 VL

<400> 46

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

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

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

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

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

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

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

<210> 47
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> BADD466-3172 VL

<400> 47

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

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

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

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

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

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

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

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDRH1 共有序列 1

<220>

<221> 變異體

<222> (1)..(1)

<223> Arg、Ser、Ala、Gly、Lys、Met 或 Thr

<220>

<221> 變異體

<222> (2)..(2)

<223> Gln、Ser、Ala、Gly、Arg 或 Thr

<220>

<221> 變異體
<222> (3)..(3)
<223> Asn、Tyr、Gly 或 Gln

<220>
<221> 變異體
<222> (4)..(4)
<223> Ala 或 Gln

<220>
<221> 變異體
<222> (5)..(5)
<223> Trp、Met、Ala、Ser 或 Thr

<400> 48

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser
1 5

<210> 49
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDRH1 共有序列 2

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> Arg 或 Ala

<220>
<221> 變異體
<222> (2)..(2)
<223> Gln 或 Arg

<400> 49

Xaa Xaa Asn Ala Trp Ser
1 5

<210> 50
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDRH1 共有序列 3

<220>

<221> 變異體
 <222> (1)..(1)
 <223> Lys、Met 或 Gly

<220>
 <221> 變異體
 <222> (2)..(2)
 <223> Ala 或 Ser

<220>
 <221> 變異體
 <222> (5)..(5)
 <223> Ser 或 Thr

<400> 50

Xaa Xaa Gly Gln Xaa Ser
 1 5

<210> 51
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> CDRH1 共有序列 4

<220>
 <221> 變異體
 <222> (1)..(1)
 <223> Ser、Arg、Thr 或 Gly

<220>
 <221> 變異體
 <222> (2)..(2)
 <223> Ala、Ser、Thr 或 Gly

<400> 51

Xaa Xaa Gln Gln Ala Ser
 1 5

<210> 52
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> XASQSVXSSYLA

<220>

<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> Arg 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> (7)..(7)
<223> 不存在或為 Ser

<400> 52

Xaa	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Xaa	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ala
1				5					10		

<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDRL2 共有序列

<220>
<221> 變異體
<222> (1)..(1)
<223> Asp 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> (4)..(4)
<223> Asn、Ser 或 Thr

<400> 53

Xaa	Ala	Ser	Xaa	Arg	Ala	Thr
1				5		

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDRL3 共有序列

<220>
<221> 變異體
<222> (8)..(8)
<223> Leu 或 Ile

<400> 54

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Xaa Thr
1 5

<210> 55
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH 共有序列

<220>
<221> 變異體
<222> (15)..(15)
<223> Gly 或 Arg

<220>
<221> 變異體
<222> (30)..(30)
<223> Arg、Ser、Ala、Gly、Lys、Met 或 Thr

<220>
<221> 變異體
<222> (31)..(31)
<223> Gln、Ser、Ala、Gly、Arg 或 Thr

<220>
<221> 變異體
<222> (32)..(32)
<223> Asn、Tyr、Gly 或 Gln

<220>
<221> 變異體
<222> (33)..(33)
<223> Ala 或 Gln

<220>
<221> 變異體
<222> (34)..(34)
<223> Trp、Met、Ala、Ser 或 Thr

<220>
<221> 變異體
<222> (39)..(39)
<223> Arg 或 Gln

<400> 55

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

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

Xaa Xaa Ser Trp Val Arg Xaa Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 56
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VL 共有序列

<220>
<221> 變異體
<222> (9)..(9)
<223> Ala 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> (24)..(24)
<223> Arg 或 Gly

<220>
<221> 變異體
<222> (30)..(30)
<223> 不存在或為 Ser

<220>
<221> 變異體
<222> (43)..(43)

<223> Gln 或 Leu

<220>

<221> 變異體

<222> (51)..(51)

<223> Asp 或 Gly

<220>

<221> 變異體

<222> (54)..(54)

<223> Asn、Ser 或 Thr

<220>

<221> 變異體

<222> (61)..(61)

<223> Ala 或 Asp

<220>

<221> 變異體

<222> (62)..(62)

<223> Ser 或 Arg

<220>

<221> 變異體

<222> (78)..(78)

<223> Arg 或 Ser

<220>

<221> 變異體

<222> (97)..(97)

<223> Leu 或 Ile

<220>

<221> 變異體

<222> (106)..(106)

<223> Glu 或 Lys

<400> 56

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

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

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

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

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

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

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

<210> 57
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> pab2188 全長 IgG1 重鏈

<400> 57

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser 145 150 155 160		
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val 165 170 175		
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro 180 185 190		
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys 195 200 205		
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp 210 215 220		
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly 225 230 235 240		
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile 245 250 255		
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu 260 265 270		
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His 275 280 285		
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg 290 295 300		
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys 305 310 315 320		
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu 325 330 335		
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr 340 345 350		

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 58
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> pab2188 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 58

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

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

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 59
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> pab2188 全長 IgG4 S228P 重鏈

<400> 59

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

1	5	10	15
Ser Leu Arg	Leu Ser Cys Ala Ala	Ser Gly Phe Thr Phe	Ser Ser Tyr
	20	25	30
Ala Met Ser	Trp Val Arg Arg Ala Pro	Gly Lys Gly Leu Glu	Trp Val
	35	40	45
Ser Ala Ile	Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr	Tyr Tyr Ala Asp	Ser Val
	50	55	60
Lys Gly Arg	Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn	Ser Lys Asn Thr Leu	Tyr
65	70	75	80
Leu Gln Met	Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp	Thr Ala Val Tyr	Tyr Cys
	85	90	95
Ala Lys Gly	Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr	Phe Asp Tyr Trp	Gly Gln
	100	105	110
Gly Thr Leu	Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr	Lys Gly Pro Ser	Val
	115	120	125
Phe Pro Leu	Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser	Glu Ser Thr Ala	Ala
	130	135	140
Leu Gly Cys	Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro	Glu Pro Val Thr	Val Ser
145	150	155	160
Trp Asn Ser	Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His	Thr Phe Pro Ala	Val
	165	170	175
Leu Gln Ser	Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser	Val Val Thr Val	Pro
	180	185	190
Ser Ser Ser	Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr	Cys Asn Val Asp	His Lys
	195	200	205
Pro Ser Asn	Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu	Ser Lys Tyr Gly	Pro
	210	215	220

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

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

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

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

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

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

<210> 60
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> AM-1 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 60

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 61
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-2 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 61

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 62
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-3 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 62

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 63
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> AM-4 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 63

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 64
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> AM-5 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 64

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 65
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-6 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 65

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 66
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-7 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 66

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gly

<210> 67
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> AM-8 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 67

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

385 390 395 400

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

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

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

Gly

<210> 68
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AM-9 全長 IgG1 N297A 重鏈

<400> 68

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Gly Asp Tyr Gly Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

325

330

335

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

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

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

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

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

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

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

Gly

- <210> 69
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> BADD466-3171 全長輕鏈序列
- <400> 69

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 70
<211> 329
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG1 G1m3 同種異型(沒有 C-端離胺酸)

<400> 70

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 71
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG1 G1m3 同種異型

<400> 71

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 72

<211> 329

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IgG1 N297A (沒有 C-端離胺酸)

<400> 72

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 73
<211> 330

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1 N297A

<400> 73

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 74
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG4 S228P (沒有 C-端離胺酸)

<400> 74

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

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

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 75
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG4 S228P

<400> 75

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

<210> 76
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 κ 輕鏈恆定區 IGKC*01 Km3 同種異型

<400> 76

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

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

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

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

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

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

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

<210> 77
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 κ 輕鏈恆定區 IGKC*01 Km3 同種異型(具有 T109S 突變)

<400> 77

Arg Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

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

<210> 78
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 78

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

	85		90		95
Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile	100		105		110
Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val	115		120		125
Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe	130		135		140
Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala	145		150		155
Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile	165		170		175
Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu	180		185		190
Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly	195		200		205
Ile Cys Ala Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe	210		215		220
Lys Trp Tyr Ser His Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile	225		230		235
Ser Leu Ala Asn Leu Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu	245		250		255
Gly Ile Arg Ser Glu Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr	260		265		270
Glu Val Glu Glu Pro Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln	275		280		285
Gln Pro Ser Gln Pro Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro	290		295		300

<210> 79
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 79

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

Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp
 20 25 30

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
 35 40 45

Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
 50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
 65 70 75 80

Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
 85 90 95

Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
 100 105 110

Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
 115 120 125

Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu
 130 135 140

Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn
 145 150 155 160

Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala
 165 170 175

Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Gly Leu
 180 185 190

Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe Lys Trp Tyr Ser His
195 200 205

Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile Ser Leu Ala Asn Leu
210 215 220

Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu Gly Ile Arg Ser Glu
225 230 235 240

Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr Glu Val Glu Glu Pro
245 250 255

Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln Gln Pro Ser Gln Pro
260 265 270

Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro
275 280

<210> 80
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> pab1944w VH

<400> 80

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

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

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

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

Lys Thr Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

859095

Ala Arg Gly Tyr Tyr Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100105110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 81
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> pab1944w VL

<400> 81

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
151015

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ile Asn
202530

Ile Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
354045

Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
505560

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65707580

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Val Gln Tyr Gly Gln Phe Pro Trp
859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100105

<210> 82
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> Hum11 VH

<400> 82

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Val Gly Gly Ala Phe Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 83

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Hum11 VL

<400> 83

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

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

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35

40

45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

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

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

Lys Asp Pro Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 84
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84

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

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

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

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

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

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

Ala Lys

<210> 85

<211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 85

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

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

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

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

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

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

<210> 86
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 86

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

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

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

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

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

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

<210> 87
<211> 96
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87

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

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

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

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

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

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

<210> 88
<211> 96
<212> PRT
<213> 智人

<400> 88

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

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

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

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

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

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

<210> 89
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> pab1944w (IgG1 N297A)全長重鏈

<400> 89

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

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

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

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

Lys Thr Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

<210> 90
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> pab1944w (IgG1 N297A)全長輕鏈

<400> 90

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

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

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

Tyr His Gly Thr Asn Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 91
<211> 444
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hum11 (IgG4 S228P)全長重鏈

<400> 91

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

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

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

	35		40		45														
Gly	Asp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asn	Gly	Asp	Thr	Ser	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe				
50					55					60									
Lys	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr				
65					70					75					80				
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
			85						90					95					
Ala	Arg	Val	Gly	Gly	Ala	Phe	Pro	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr				
			100					105					110						
Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro				
		115					120					125							
Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly				
	130					135					140								
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn				
145					150					155					160				
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln				
			165						170					175					
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser				
			180					185					190						
Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser				
		195					200					205							
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys				
	210					215					220								
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu				
225					230					235					240				
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu				
			245						250					255					

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

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

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

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

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

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

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

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

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

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440

<210> 92
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hum11 (IgG4 S228P)全長輕鏈

<400> 92

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

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

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser Gly Val Pro Ser
50 55 60

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

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

Lys Asp Pro Ser Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 93

Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn
1 5

<210> 94
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人

<400> 94

Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val
1 5 10 15

Val Leu

<210> 95
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 95

Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp
1 5 10

<210> 96
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 96

Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys
1 5 10 15

Leu

<210> 97
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 97

Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu
 1 5

<210> 98
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 98

Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro
 1 5

<210> 99
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 99

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu
 1 5

<210> 100
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 100

Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro Arg
 1 5

<210> 101
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人類 TIM-3 F40A

<400> 101

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

Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp
20 25 30

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Ala Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
35 40 45

Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
65 70 75 80

Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
85 90 95

Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
100 105 110

Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
115 120 125

Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu
130 135 140

Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn
145 150 155 160

Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala
165 170 175

Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Gly Leu
180 185 190

Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Phe Lys Trp Tyr Ser His
195 200 205

Ser Lys Glu Lys Ile Gln Asn Leu Ser Leu Ile Ser Leu Ala Asn Leu
210 215 220

Pro Pro Ser Gly Leu Ala Asn Ala Val Ala Glu Gly Ile Arg Ser Glu
225 230 235 240

Glu Asn Ile Tyr Thr Ile Glu Glu Asn Val Tyr Glu Val Glu Glu Pro
245 250 255

Asn Glu Tyr Tyr Cys Tyr Val Ser Ser Arg Gln Gln Pro Ser Gln Pro
260 265 270

Leu Gly Cys Arg Phe Ala Met Pro
275 280

<210> 102
<211> 179
<212> PRT
<213> 智人

<400> 102

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

Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp
20 25 30

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg
35 40 45

Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn
50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr
65 70 75 80

Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile Gln Ile Pro Gly Ile
85 90 95

Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys
100 105 110

Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro
115 120 125

Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu
 130 135 140

Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn
 145 150 155 160

Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala
 165 170 175

Thr Ile Arg

申請專利範圍

【請求項1】一種特異性結合人類TIM-3之分離抗體，該抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含互補決定區CDRH1、CDRH2及CDRH3且該輕鏈可變區包含互補決定區CDRL1、CDRL2及CDRL3，其中CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含如SEQ ID NO: 1、2、3、14、21及22；4、2、3、14、21及22；5、2、3、14、21及22；6、2、3、14、21及22；7、2、3、14、21及22；8、2、3、14、21及22；9、2、3、14、21及22；10、2、3、14、21及22；11、2、3、14、21及22；或12、2、3、14、21及22所示之胺基酸序列。

【請求項2】如請求項1之分離抗體，其中CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2及CDRL3分別包含如SEQ ID NO: 5、2、3、14、21及22所示之胺基酸序列。

【請求項3】如請求項1之分離抗體，其中

(a) 該重鏈可變區包含

(i) SEQ ID NO: 55之胺基酸序列；

(ii) 與選自由SEQ ID NO: 24至35組成的群之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%或95%相同之胺基酸序列；或

(iii) 選自由SEQ ID NO: 24至35組成的群之胺基酸序列；及/或

(b) 該輕鏈可變區包含

(i) SEQ ID NO: 56之胺基酸序列；

(ii) 與選自由SEQ ID NO: 42、43、45及46組成的群之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%或95%相同之胺基酸序列；或

(iii) 選自由SEQ ID NO: 42、43、45及46組成的群之胺基酸序列。

【請求項4】如請求項1之分離抗體，其中

(a) 該重鏈可變區和該輕鏈可變區分別包含如SEQ ID NO: 26和42；24和42；24和46；24和43；26和43；26和46；25和45；25和46；25和42；25和43；27和46；28和46；29和46；30和46；31和46；32和46；33和46；34和46；或35和46所示之胺基酸序列；或

(b) 該抗體包含重鏈及/或輕鏈，該重鏈包含SEQ ID NO: 58、61或65之胺基酸序列且該輕鏈包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列。

【請求項5】如請求項1之分離抗體，其中該抗體包含選自由以下組成的群之重鏈恆定區：人類IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁及IgA₂。

【請求項6】如請求項5之分離抗體，其中該重鏈恆定區係：

(a) IgG₁重鏈恆定區；

(b) IgG₁重鏈恆定區，其中

(i) 該IgG₁重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號系統編號的N297A突變；

(ii) 該IgG₁重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據EU編號

系統編號的 N297Q 突變；或

(iii) 該 IgG₁ 重鏈恆定區係非經岩藻糖化；

(c) 包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列的重鏈恆定區；

(d) IgG₄ 重鏈恆定區；

(e) IgG₄ 重鏈恆定區，其中該 IgG₄ 重鏈恆定區之胺基酸序列包含根據 EU 編號系統編號的 S228P 突變；或

(f) 包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列的重鏈恆定區。

【請求項 7】如請求項 1 之分離抗體，其中該抗體包含：

(a) 人類 κ 輕鏈恆定區；

(b) 人類 λ 輕鏈恆定區；或

(c) 包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列的輕鏈恆定區。

【請求項 8】如請求項 1 之分離抗體，其包含重鏈和輕鏈，其中該重鏈和該輕鏈分別包含如 SEQ ID NO: 61 和 69 所示之胺基酸序列。

【請求項 9】如請求項 1 之分離抗體，其中該抗體

(a) 為人類抗體；

(b) 對人類 TIM-3 具有拮抗性；

(c) 去活化、降低或抑制人類 TIM-3 之活性；

(d) 抑制人類 TIM-3 結合磷脂醯絲胺酸；及/或

(e) 在與表現人類 TIM-3 之細胞結合後內化。

【請求項 10】如請求項 1 之分離抗體，其接合至細胞

毒性劑、細胞生長抑制劑、毒素、放射性核素或可偵測標記。

【請求項 11】一種醫藥組合物，其包含如請求項 1 至 10 中任一項之抗體及醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。

【請求項 12】一種如請求項 1 至 10 中任一項之抗體或如請求項 11 之醫藥組合物於製造藥物之用途，該藥物係用於

- (a) 治療有其需要的受試者之癌症；
- (b) 增強受試者響應抗原之 T 細胞活化；或
- (c) 治療有其需要的受試者之感染性疾病。

【請求項 13】一種分離之多核苷酸，其編碼

- (a) 如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區；
- (b) 如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈及輕鏈；
- (c) 如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該多核苷酸包含於載體內；或
- (d) 如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈及輕鏈，其中該多核苷酸包含於載體內。

【請求項 14】一種重組宿主細胞，其包含

- (a) 多核苷酸，其編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區或重鏈和輕鏈；
- (b) 第一多核苷酸和第二多核苷酸，該第一多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區或重鏈且該第二多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的

輕鏈可變區或輕鏈；

(c) 載體，該載體包含多核苷酸，該多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區或重鏈和輕鏈；或

(d) 第一載體和第二載體，該第一載體包含第一多核苷酸且該第二載體包含第二多核苷酸，該第一多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區或重鏈且該第二多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的輕鏈可變區或輕鏈。

【請求項 15】一種產生結合人類 TIM-3 之抗體之方法，該方法包含培養宿主細胞，該宿主細胞包含

(a) 多核苷酸，其編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區或重鏈和輕鏈；

(b) 第一多核苷酸和第二多核苷酸，該第一多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區或重鏈且該第二多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的輕鏈可變區或輕鏈；

(c) 載體，該載體包含多核苷酸，該多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區或重鏈和輕鏈；或

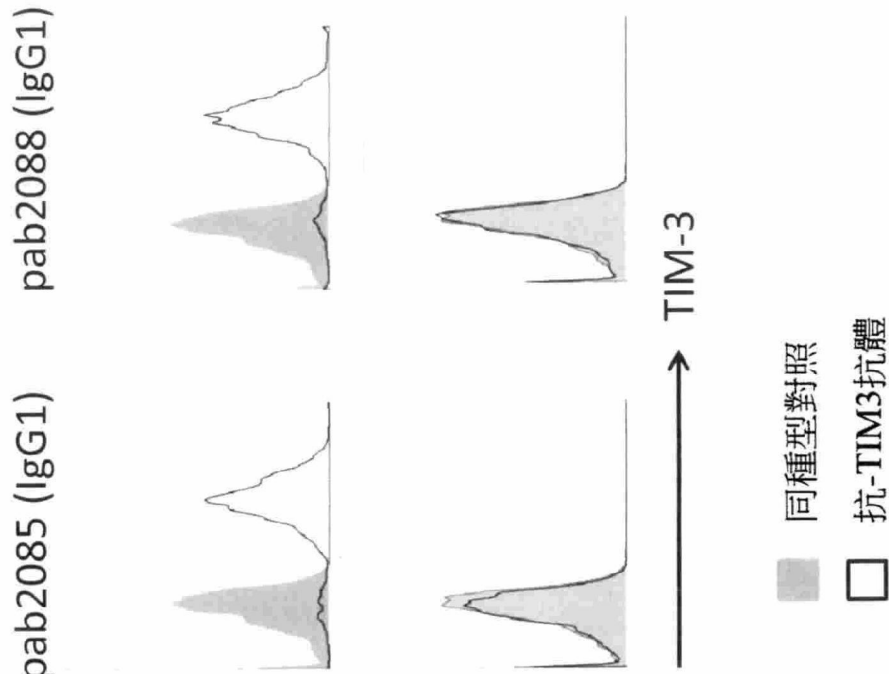
(d) 第一載體和第二載體，該第一載體包含第一多核苷酸且該第二載體包含第二多核苷酸，該第一多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的重鏈可變區或重鏈且該第二多核苷酸編碼如請求項 1 至 10 中任一項之抗體的輕

鏈可變區或輕鏈，
使得該抗體產生。

圖 1

表現人類TIM-3之
鼠科1624-5細胞

野生型鼠科
1624-5細胞



圖式

圖 2A

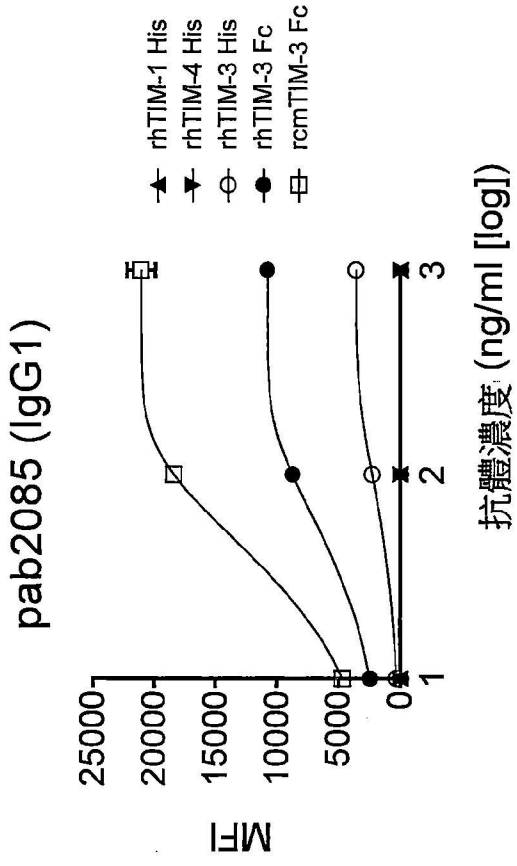


圖 2B

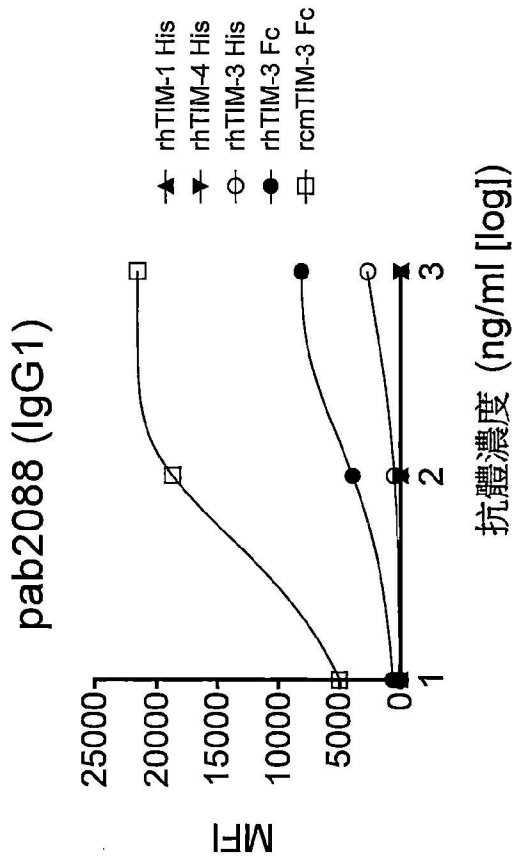
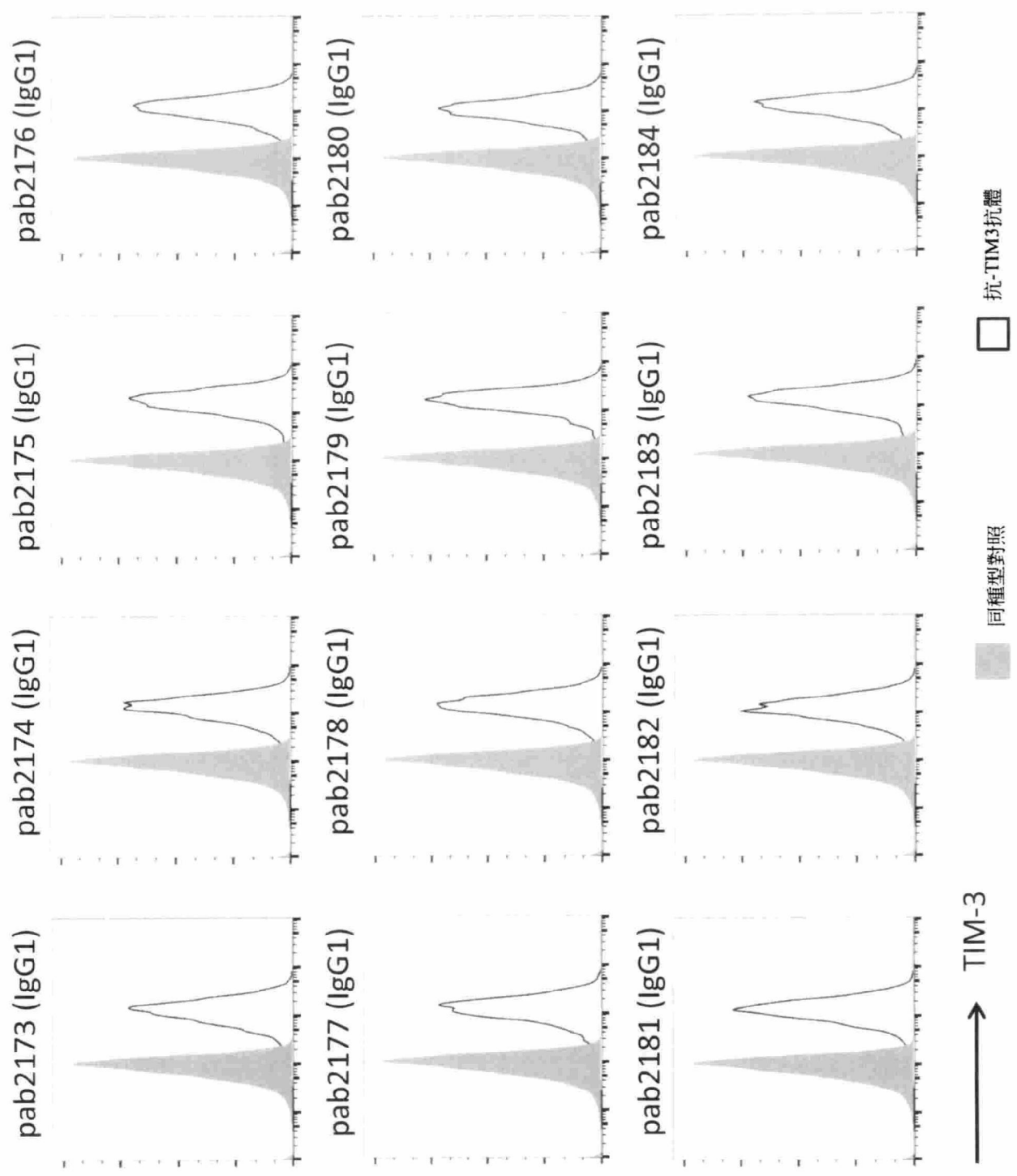
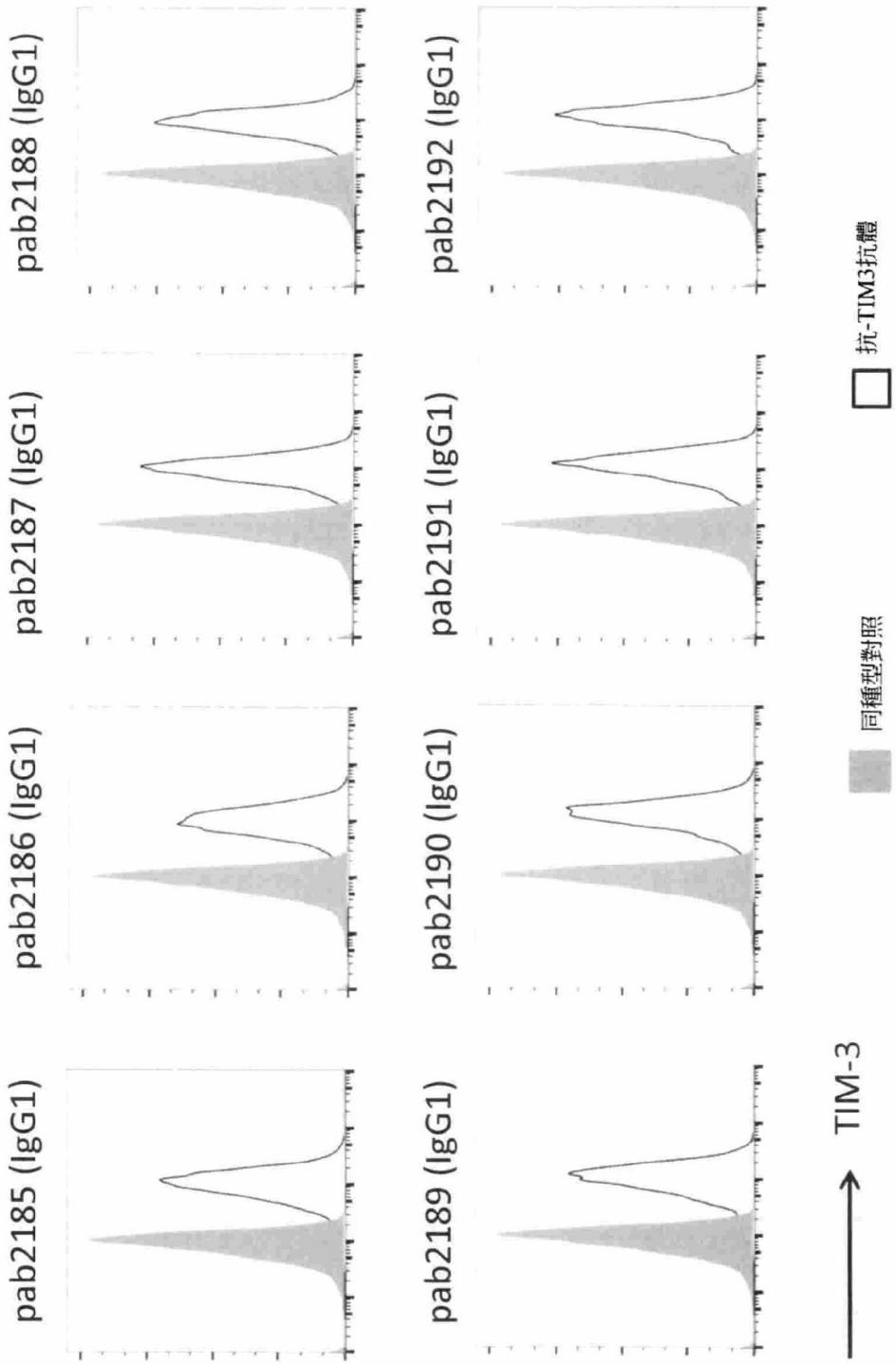


圖 3A



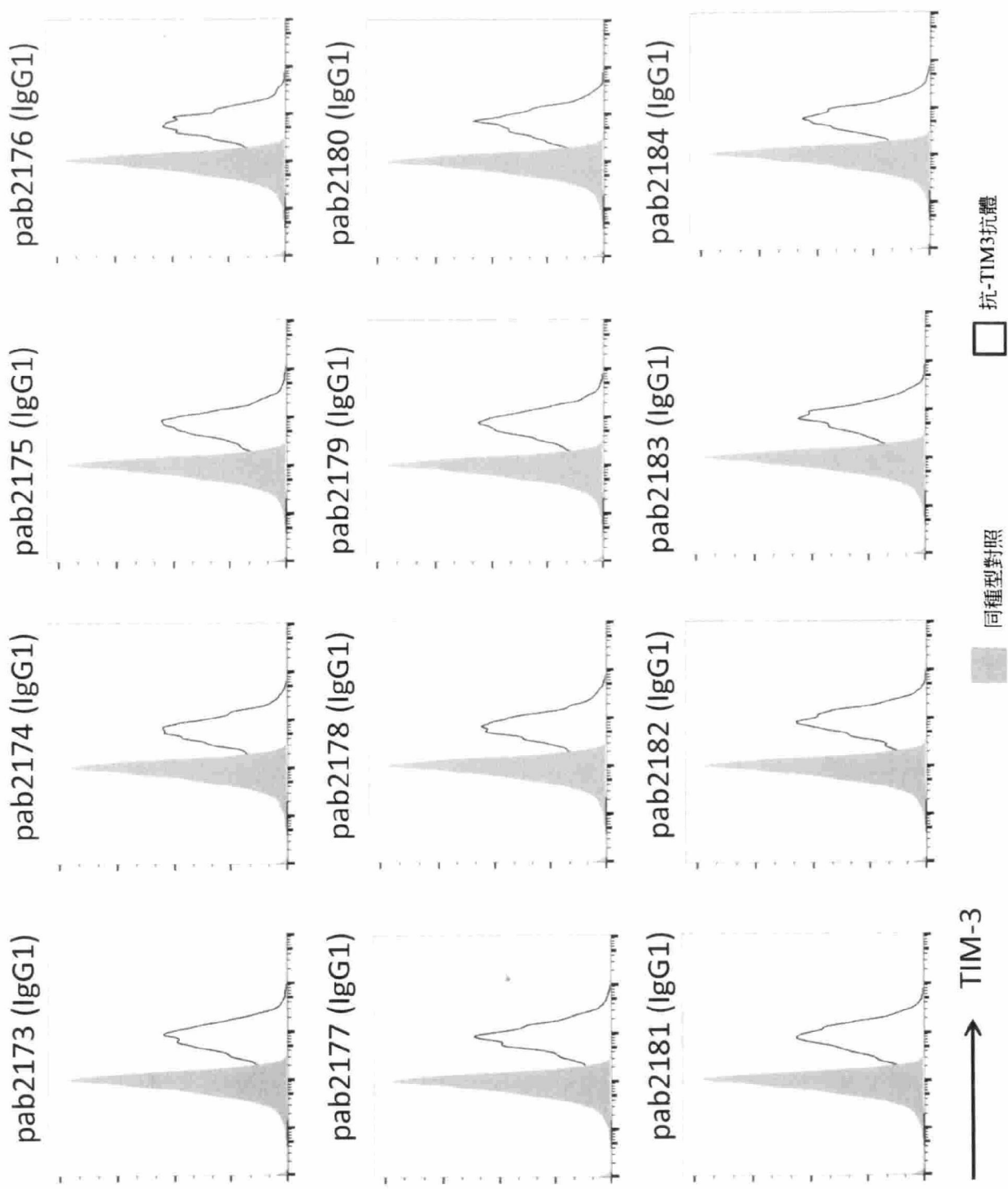
表現人類TIM-3
之1624-5細胞

圖 3B



表現人類
TIM-3之1624-5
細胞

圖 3C



表現食蟹爛猴
TIM-3之
1624-5細胞

圖 3D

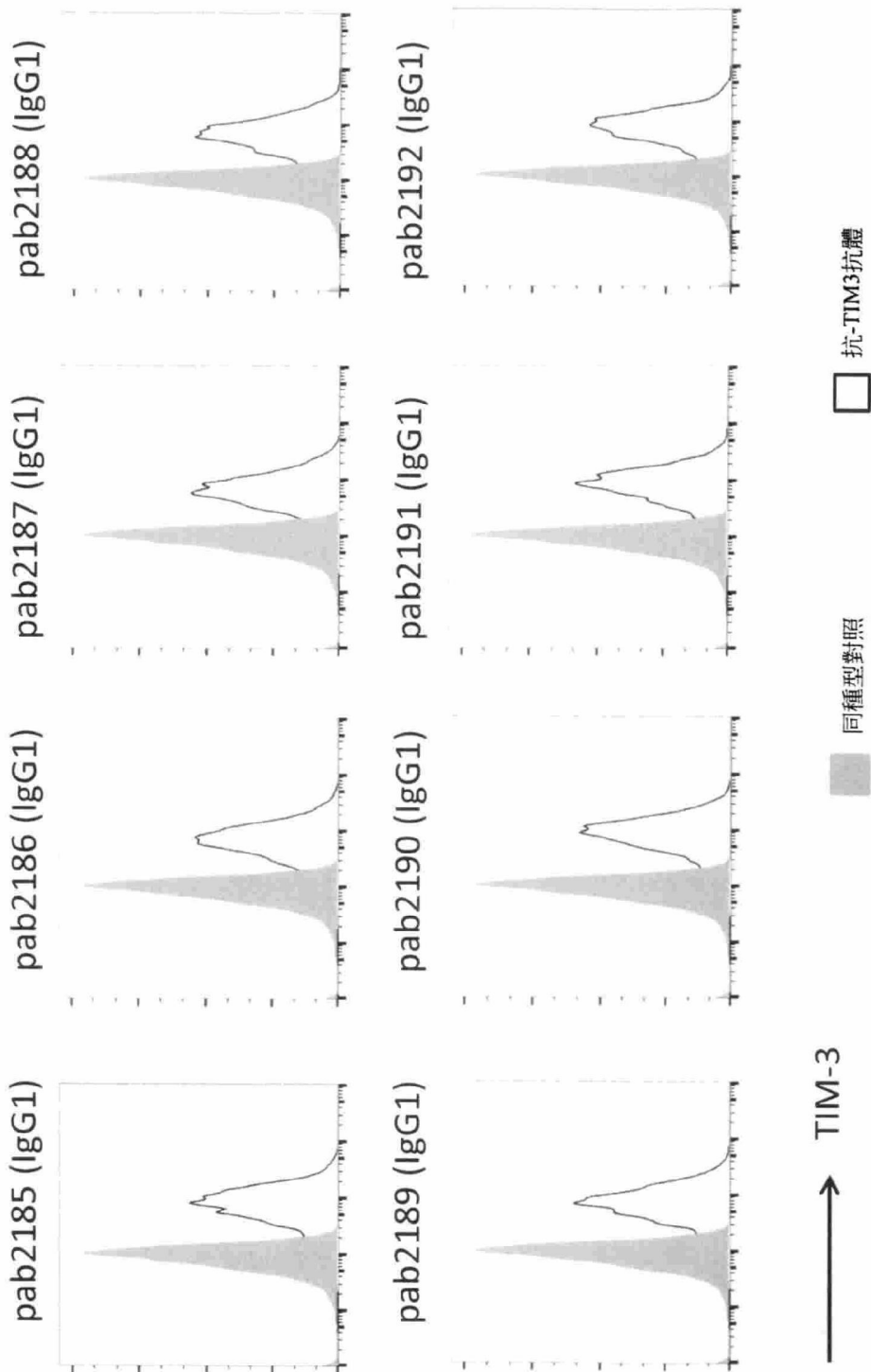


圖 4

結合至人類CD8+ T細胞

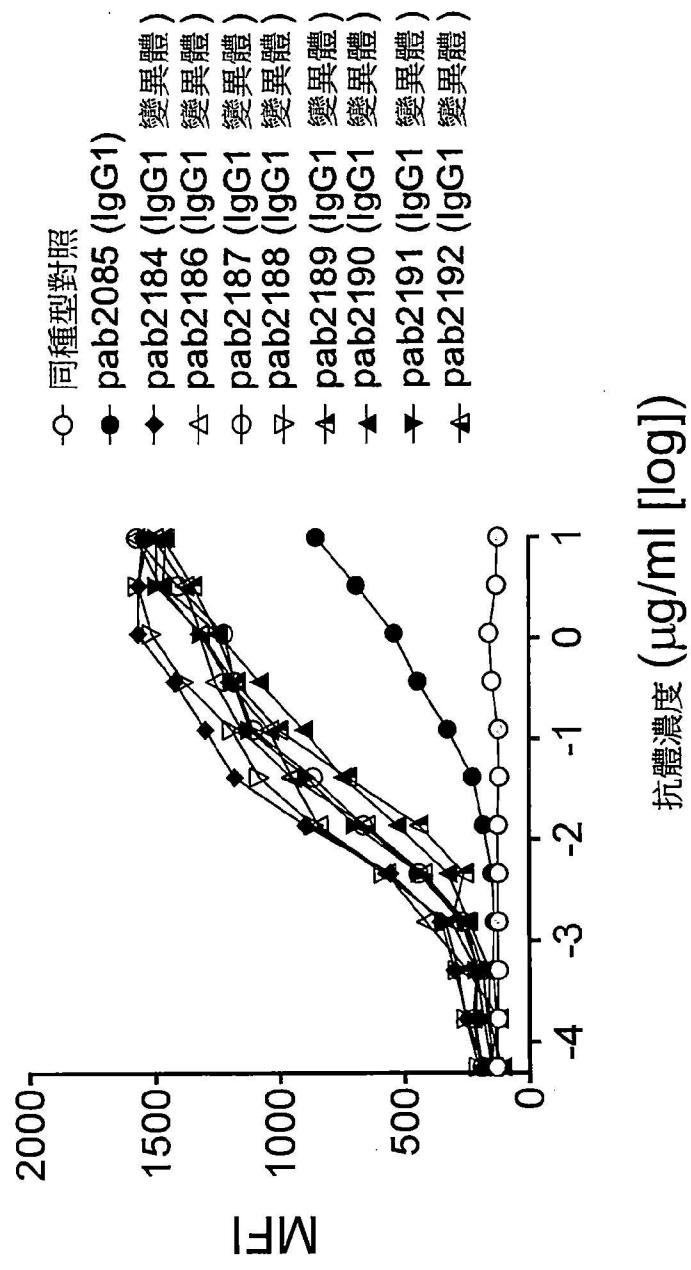


圖 5

結合至食蟹獼猴骨髓細胞

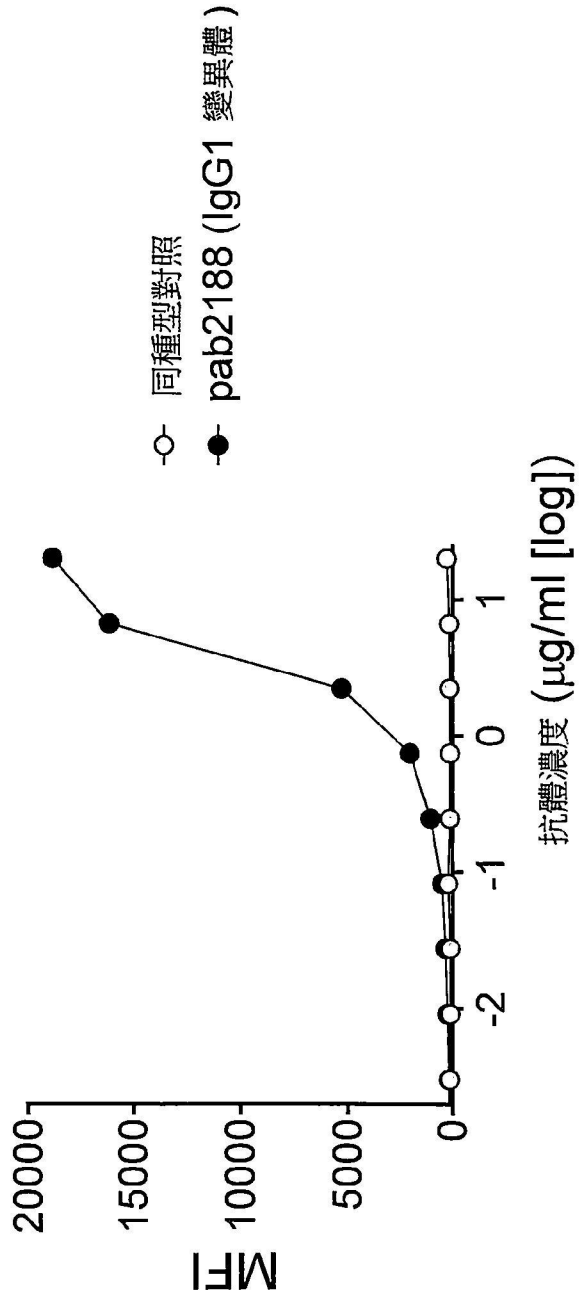


圖 6A

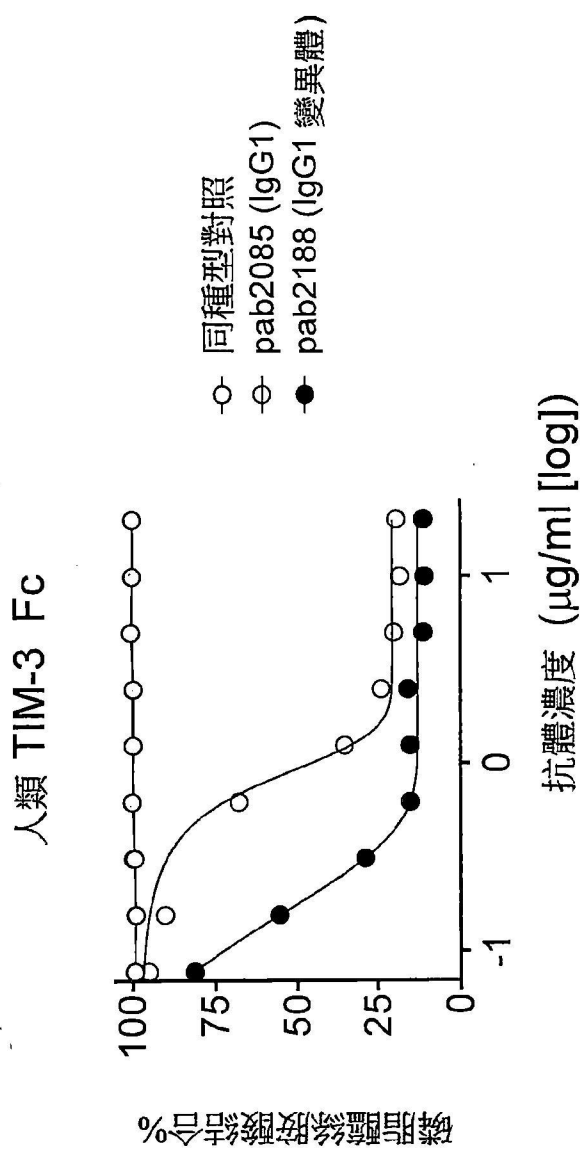


圖 6B

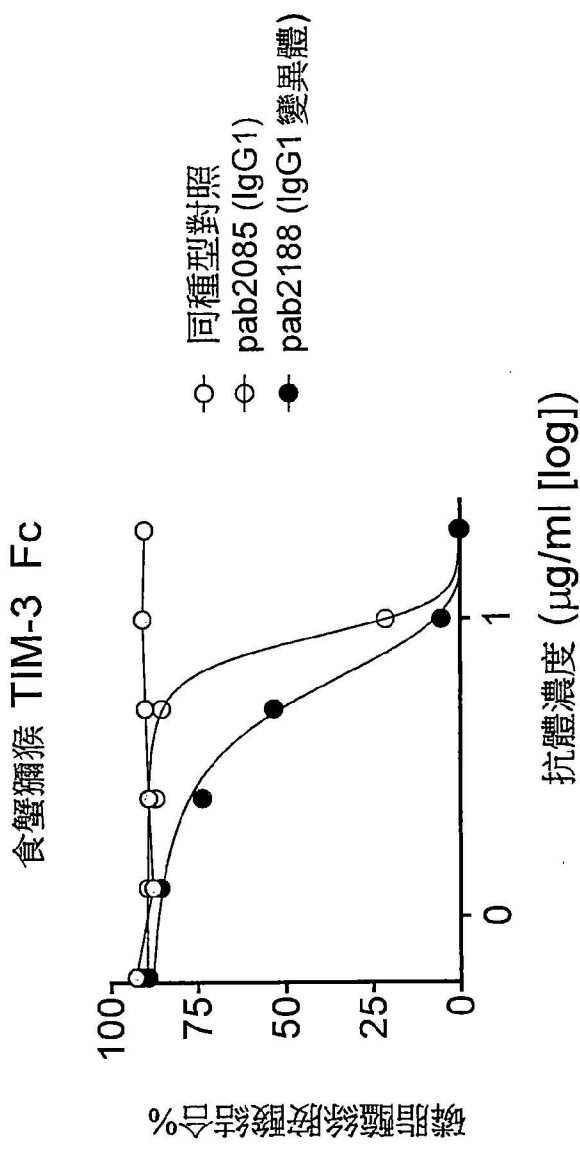


圖 7

SEA 檢定(+派姆單抗)

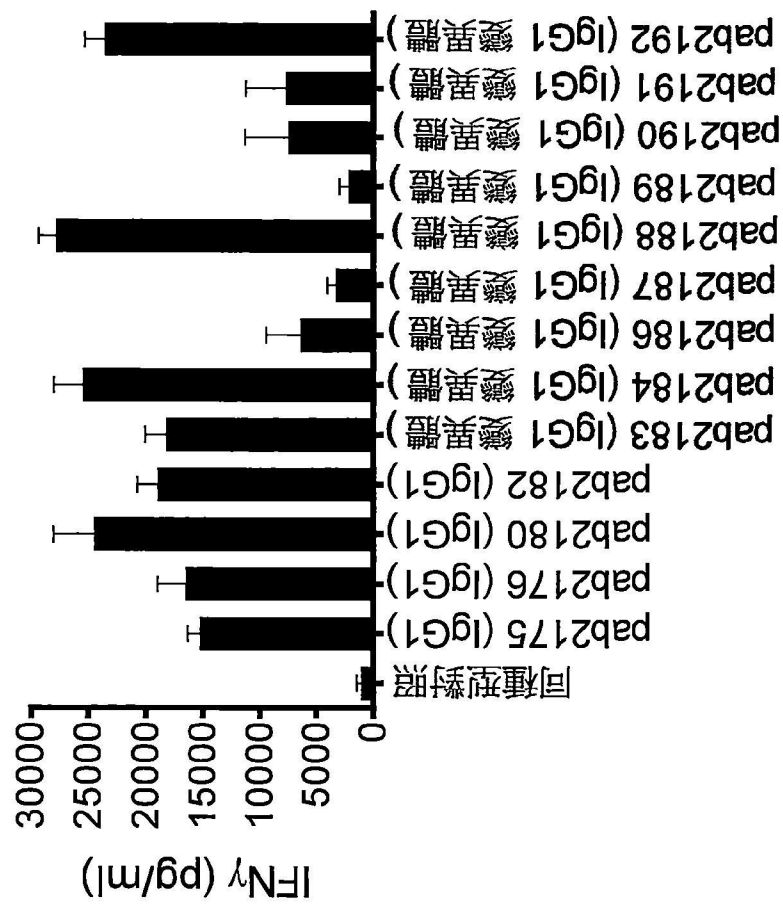


圖 8A

供體 # 1

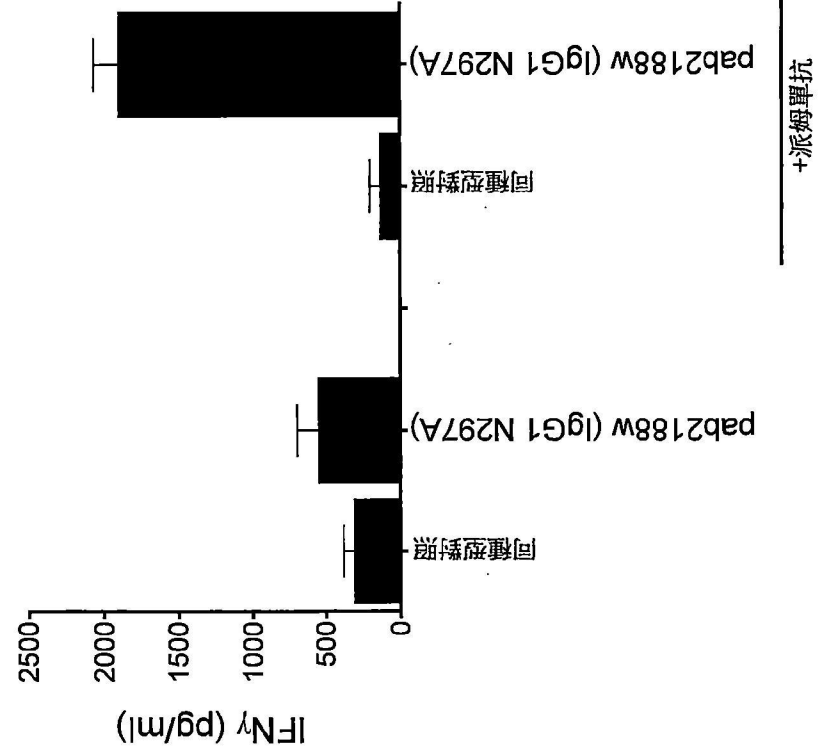


圖 8B

供體 # 2

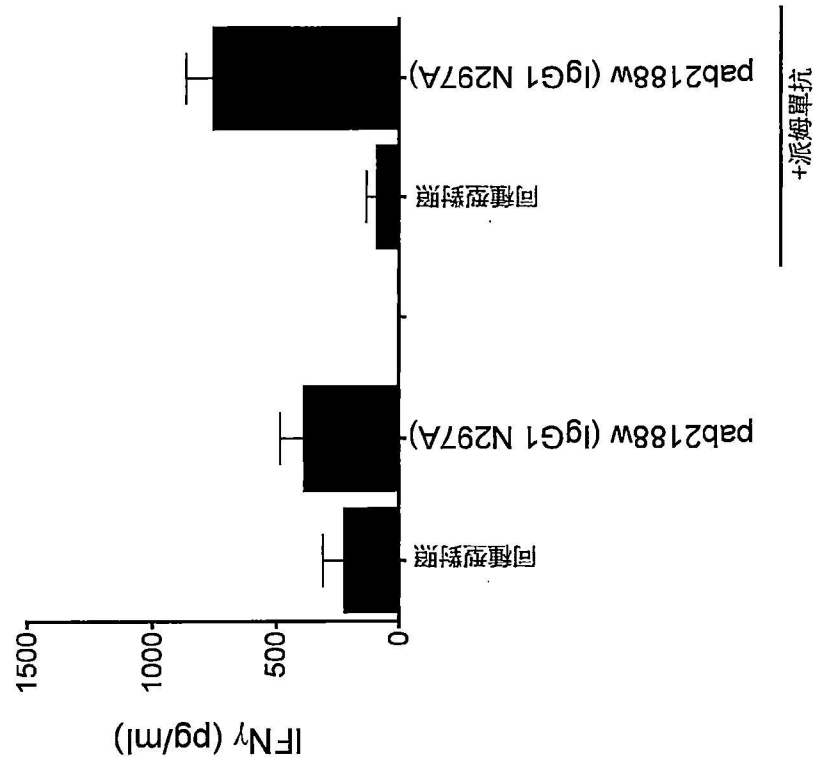


圖 8C

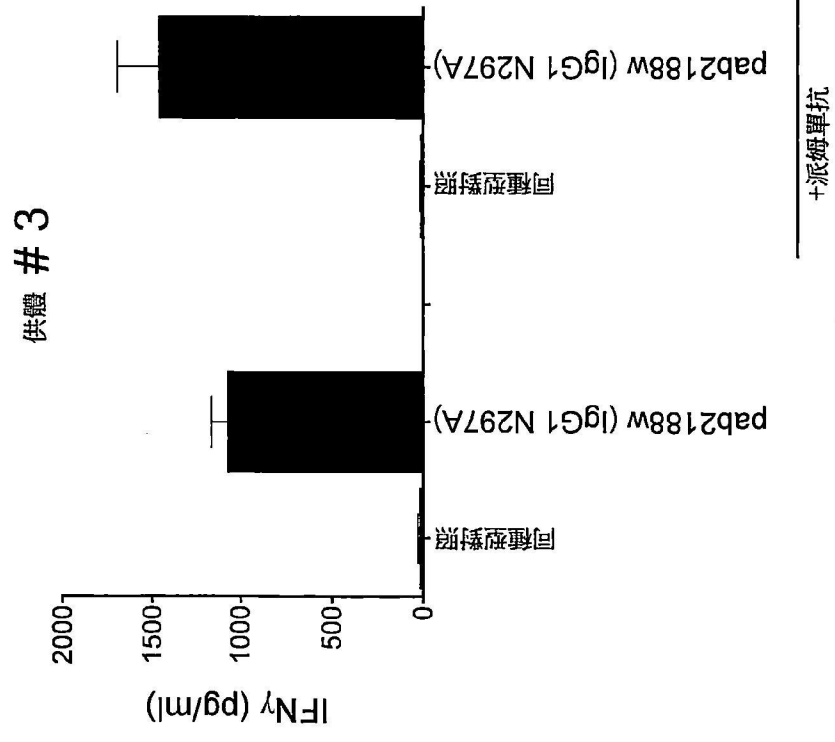


圖 8D

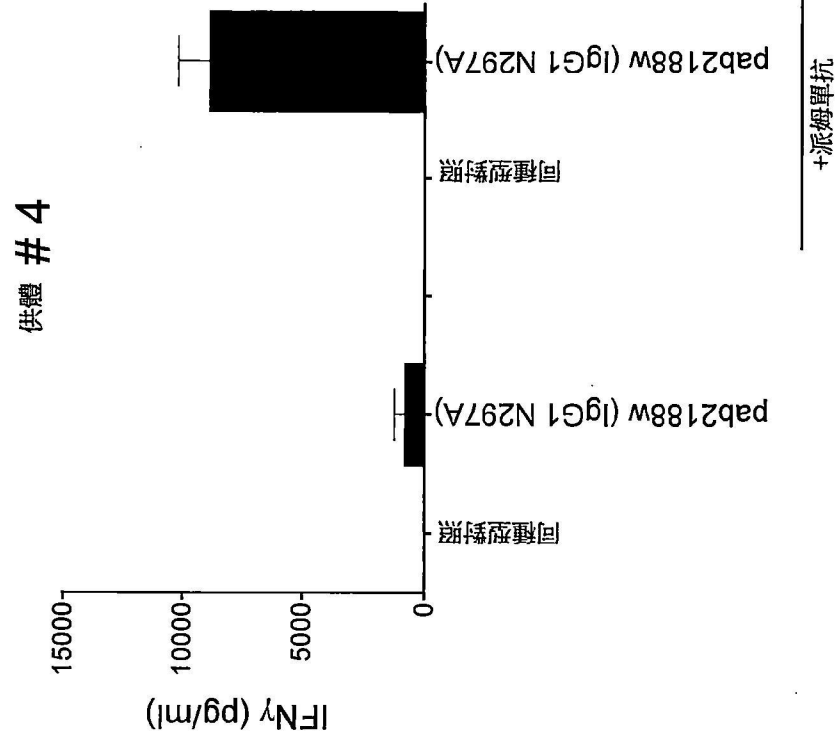


圖 8E

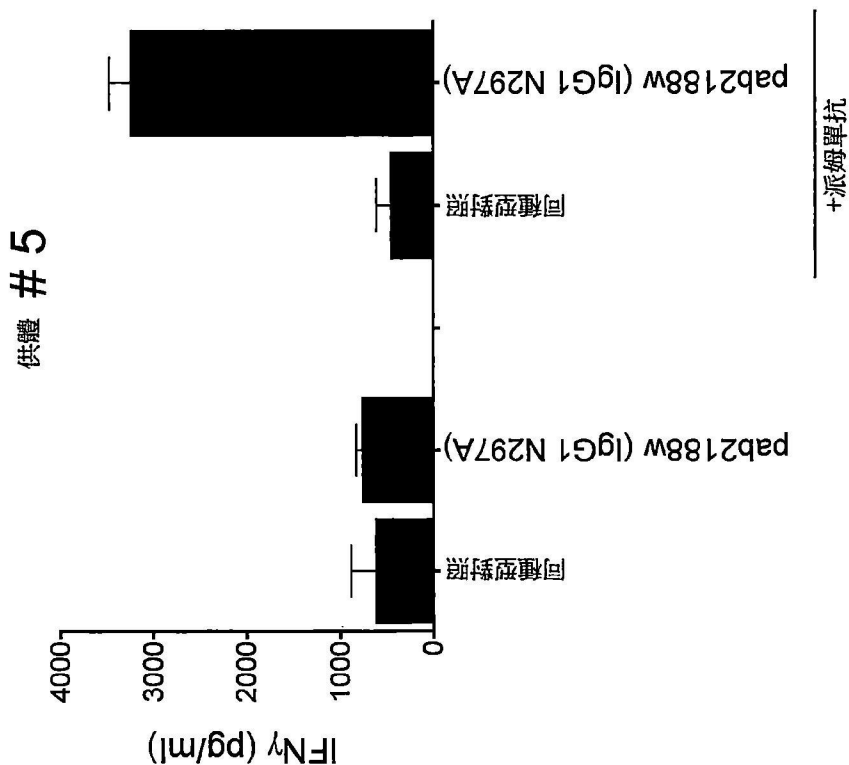


圖 8F

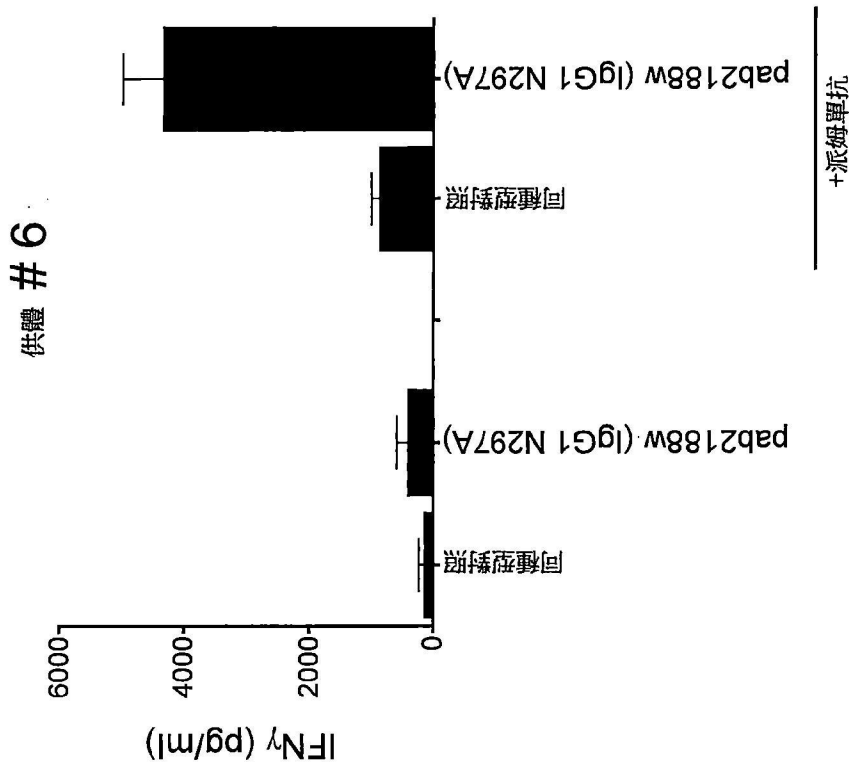


圖 9A

結合至表現TIM-3之Jurkat細胞

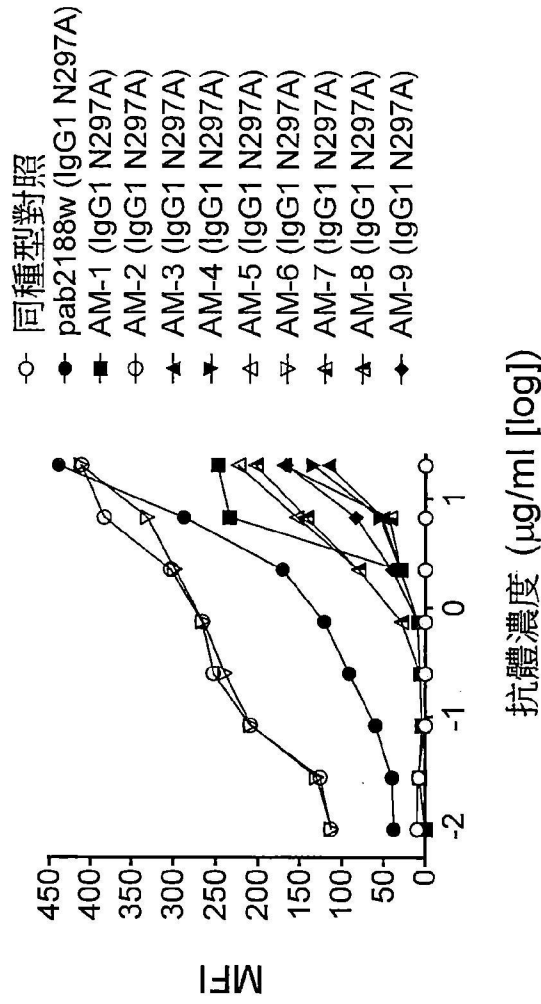


圖 9B

結合至Kasumi-3細胞

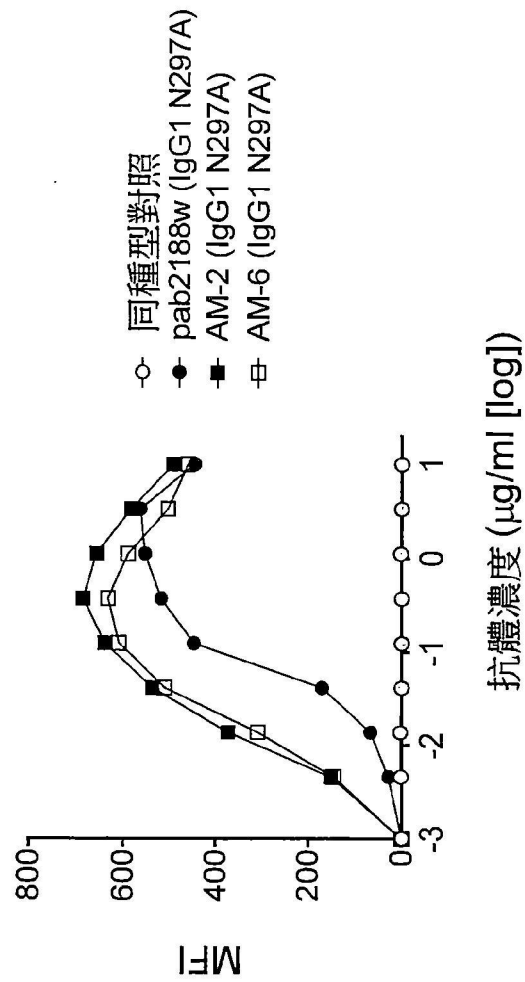


圖 9C

結合至SEA-刺激之人類CD8+ T細胞

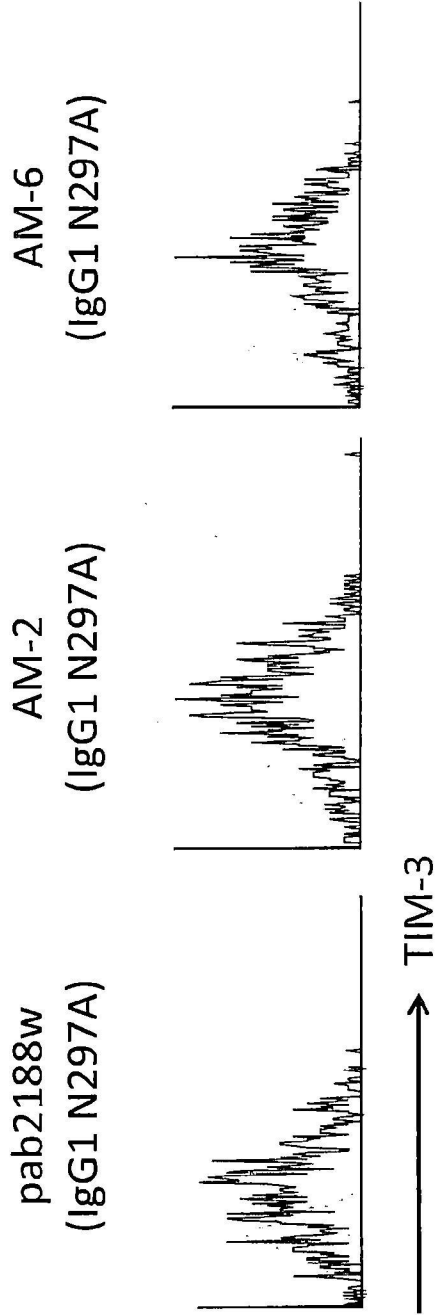


圖 9D

結合至SEA刺激的食物蟹獼猴CD8+T細胞

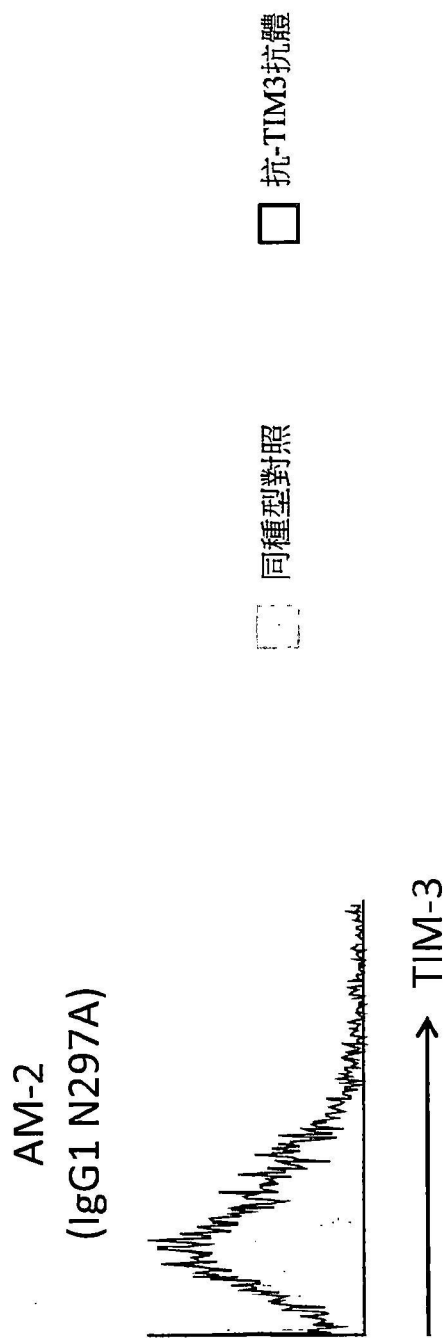


圖 9E

結合至人類骨髓細胞

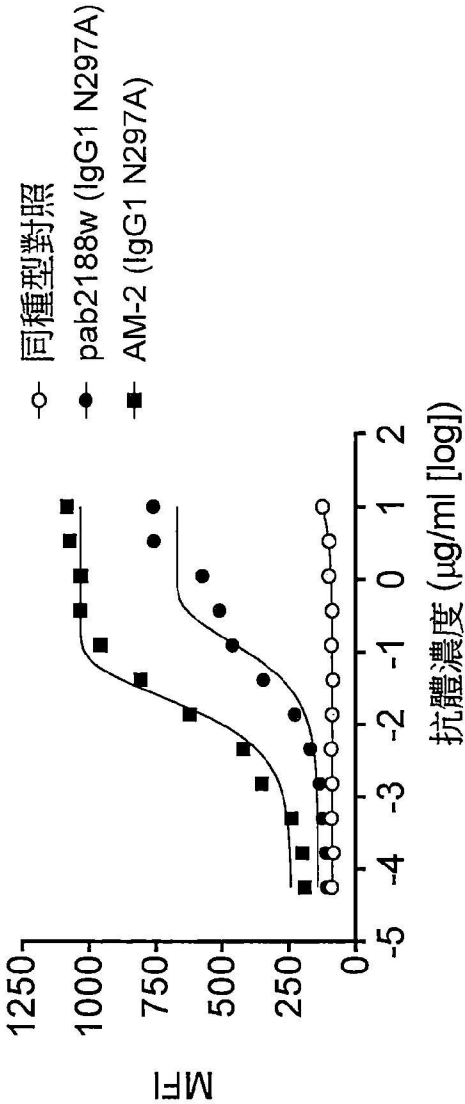


圖 9F

結合至食蟹獼猴骨髓細胞

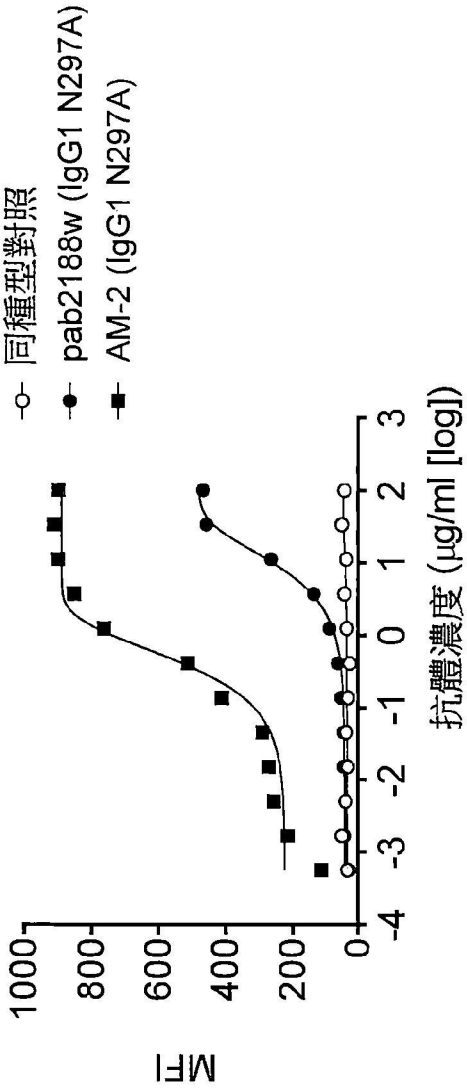


圖 10A

同種型對照

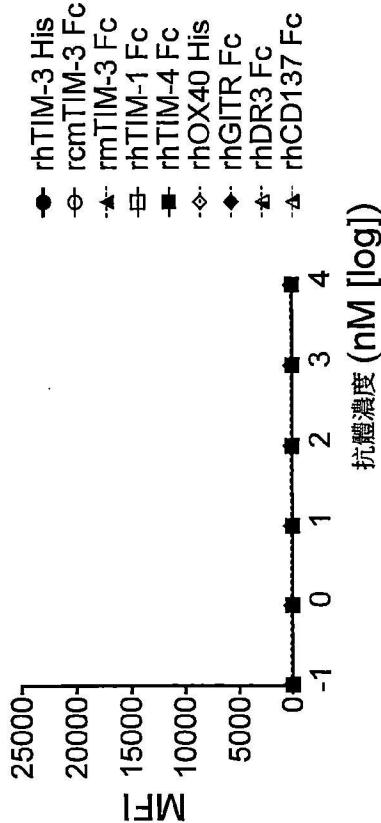


圖 10B

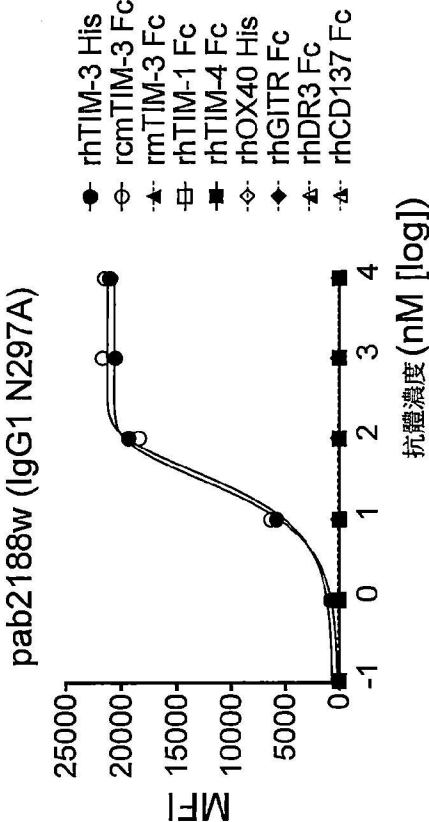


圖 10C

AM-2 (IgG1 N297A)

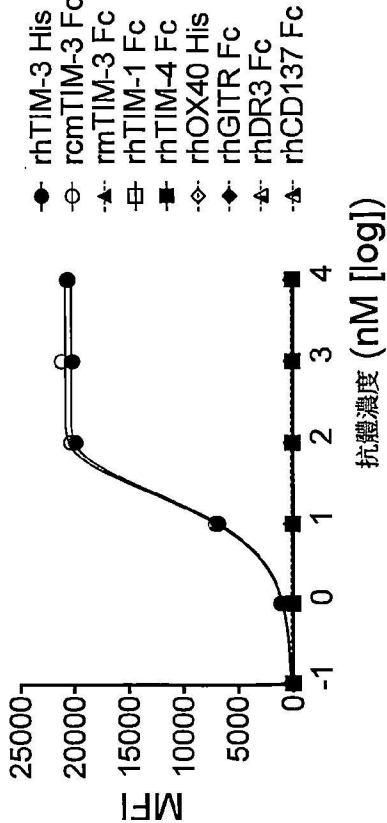


圖 10D

AM-6 (IgG1 N297A)

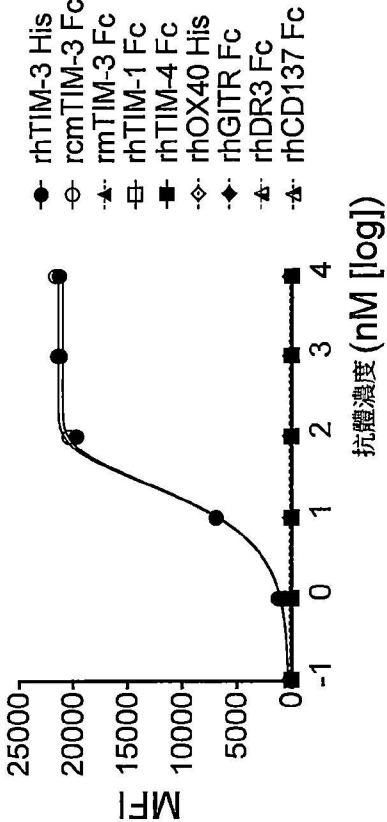


圖 11A

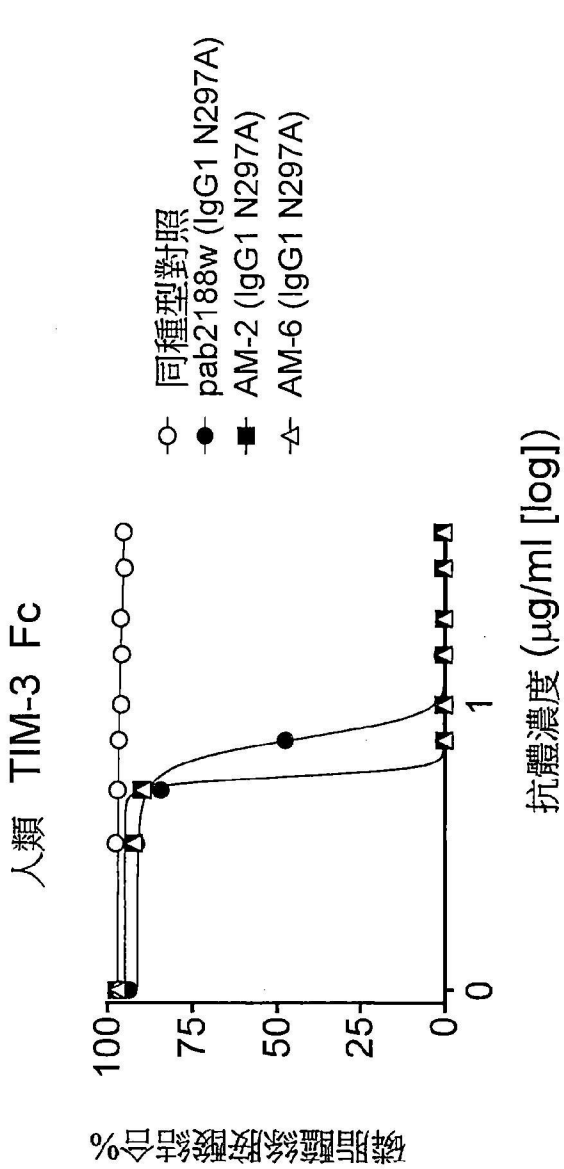
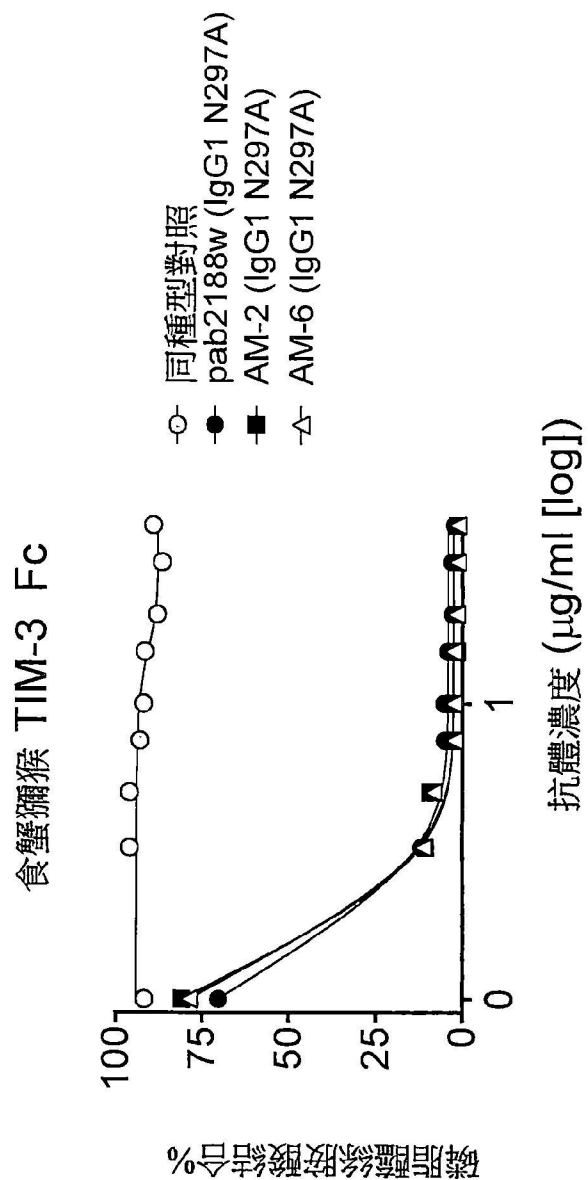


圖 11B



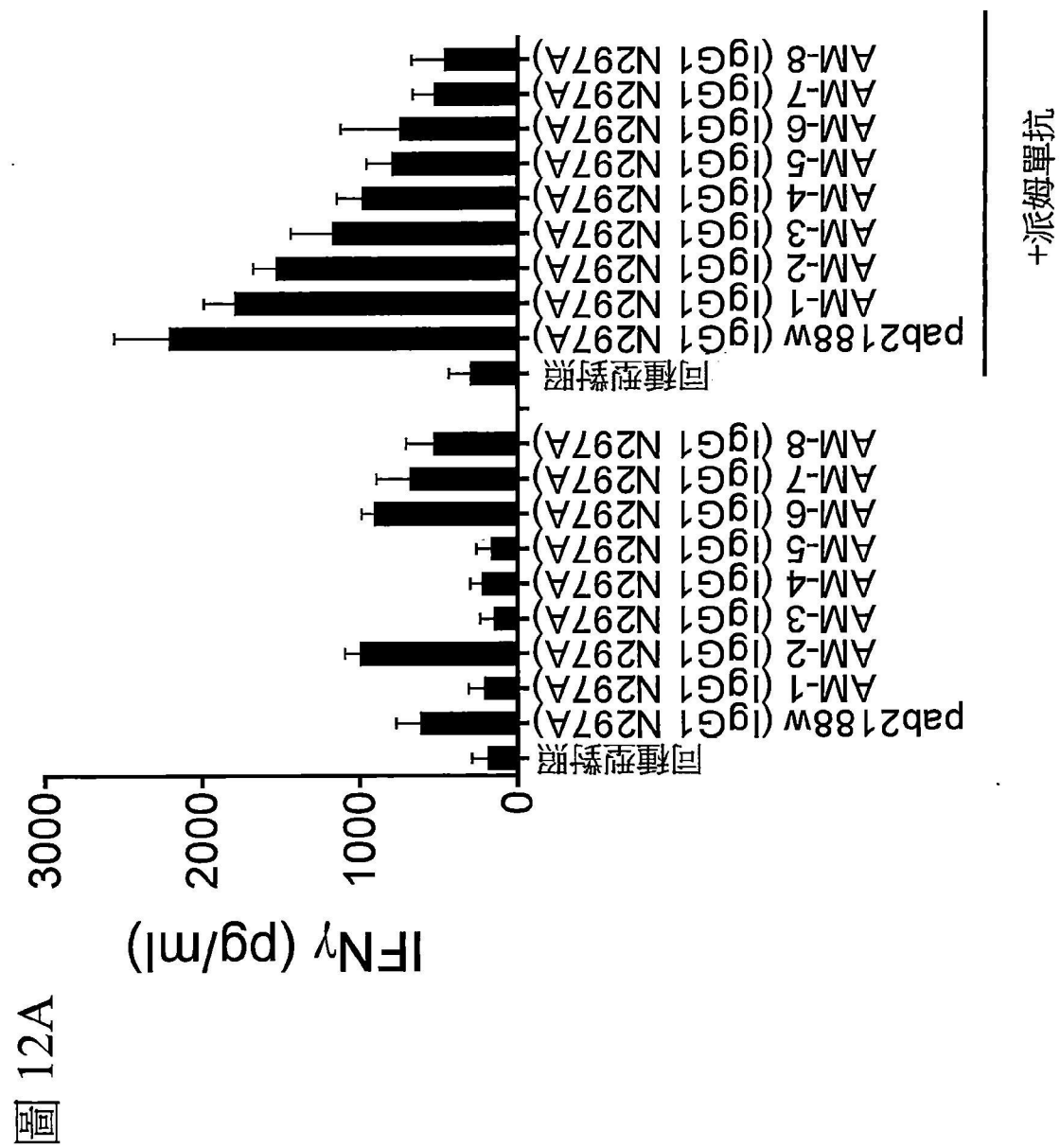


圖 12B

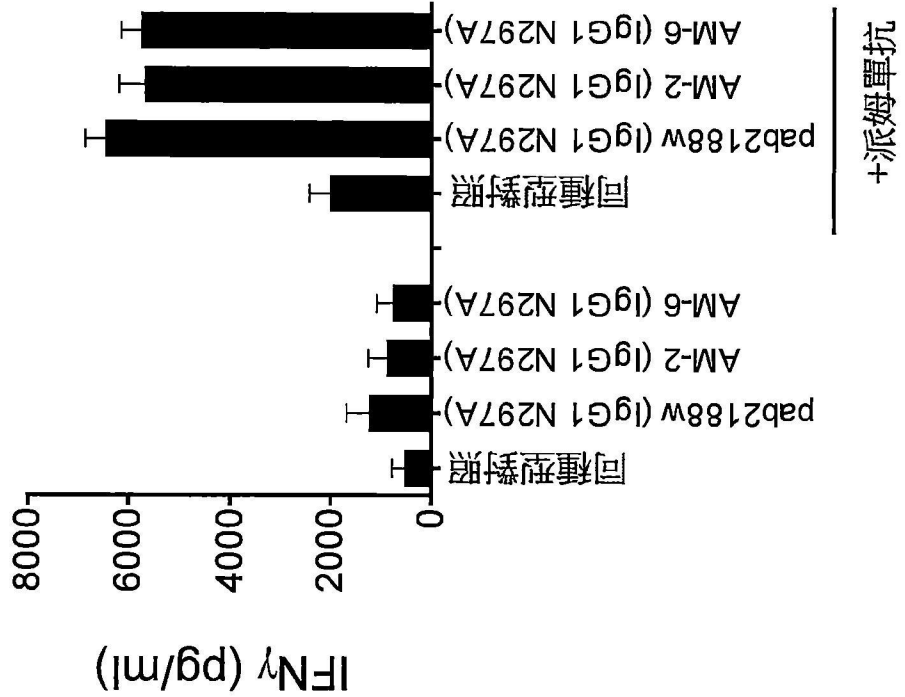


圖 13A

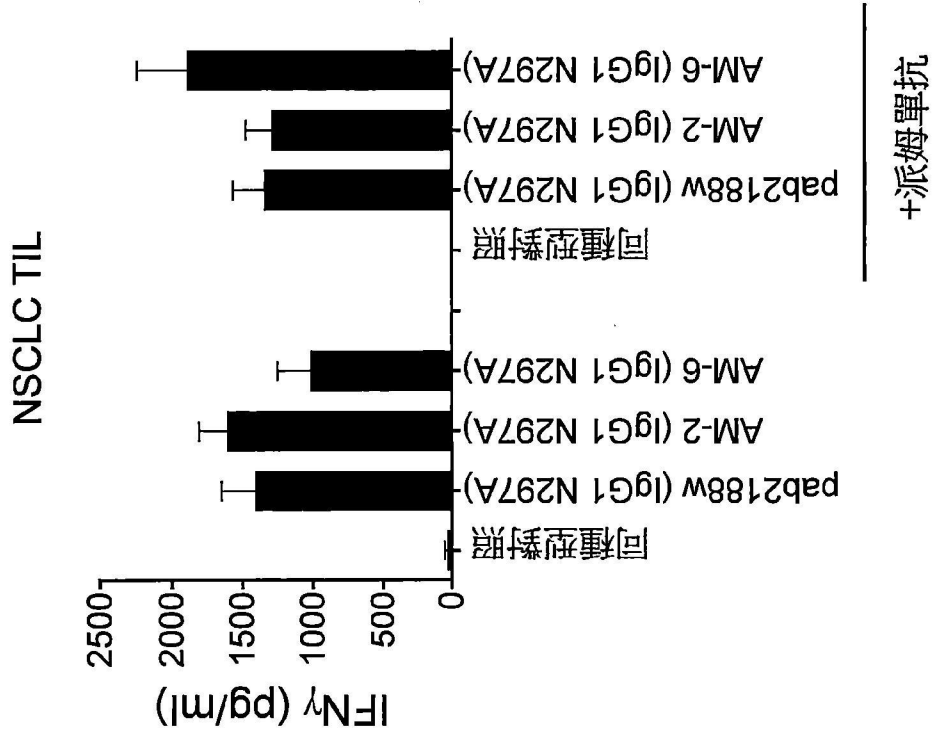


圖 13B

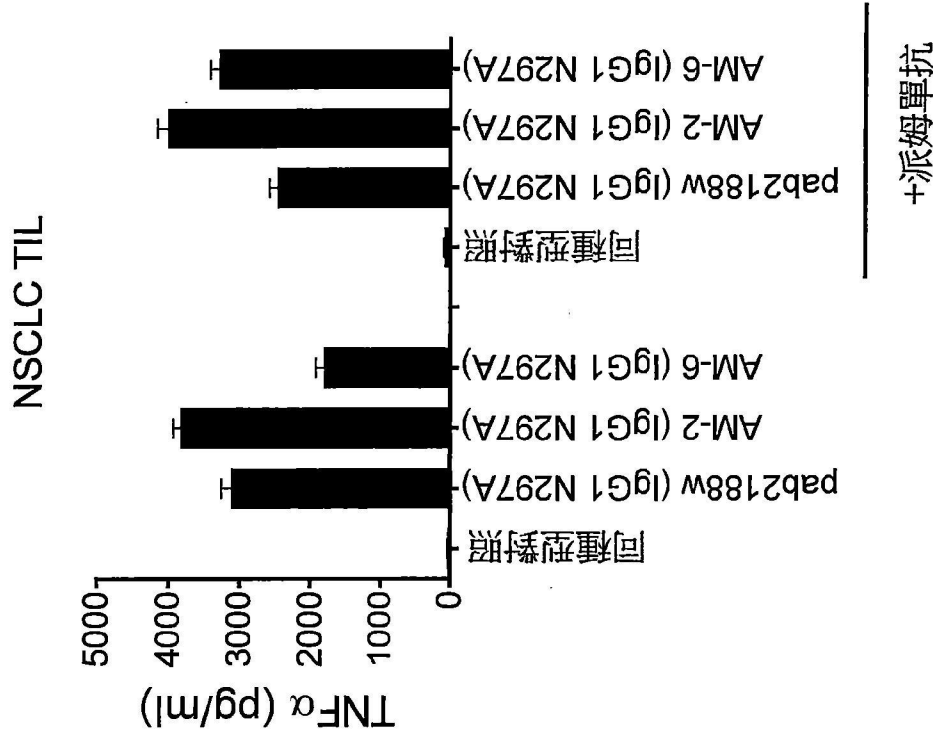


圖 13C

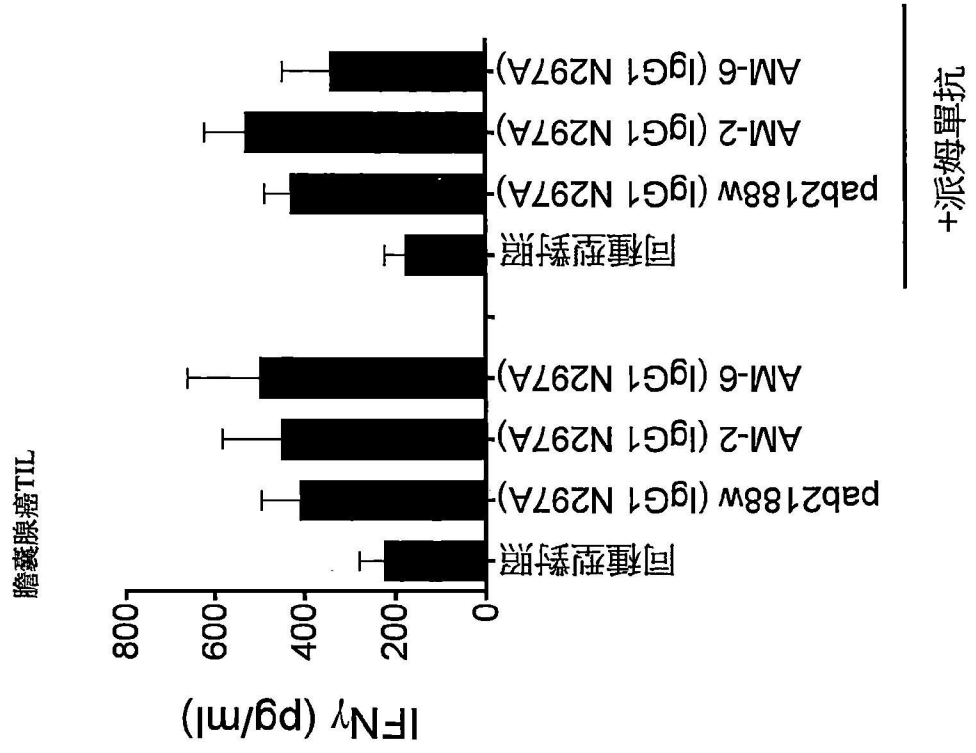


圖 13D

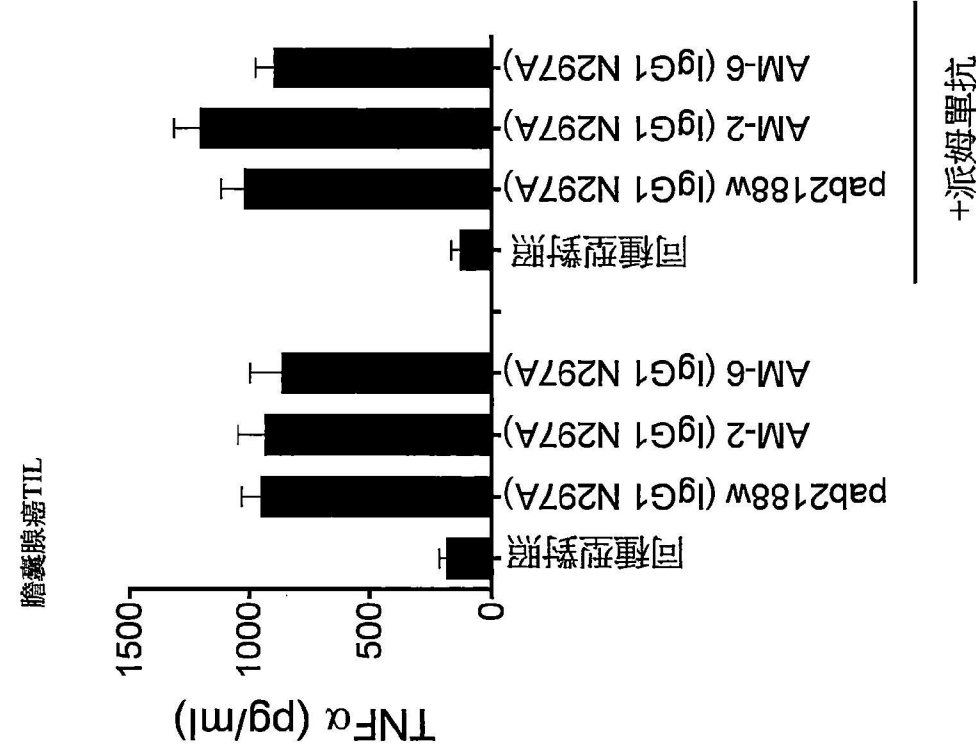


圖 13E

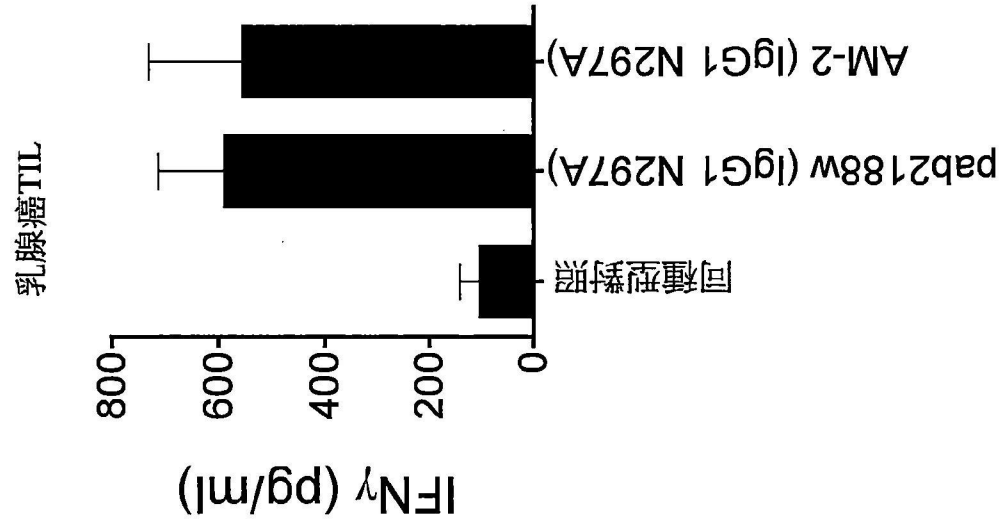


圖 13F

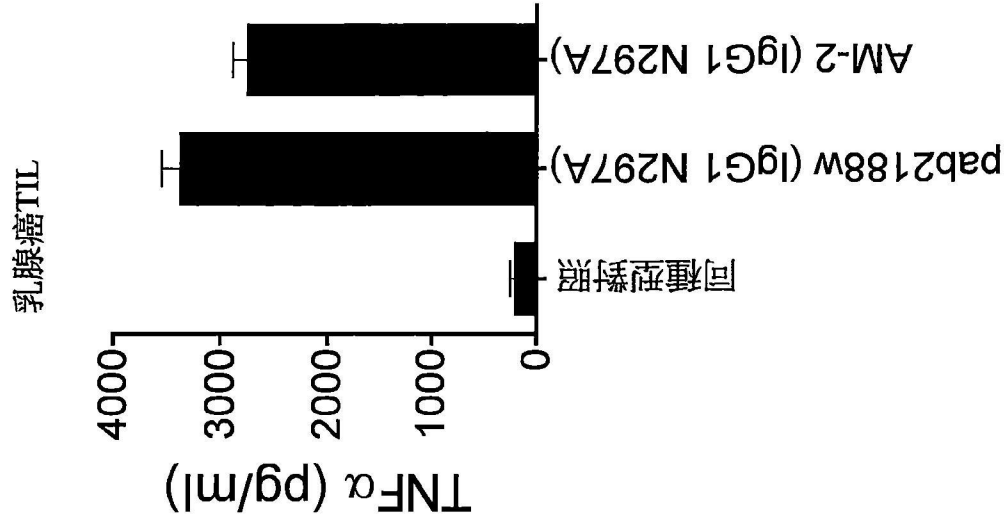


圖 14A

表現TIM-3之Jurkat細胞

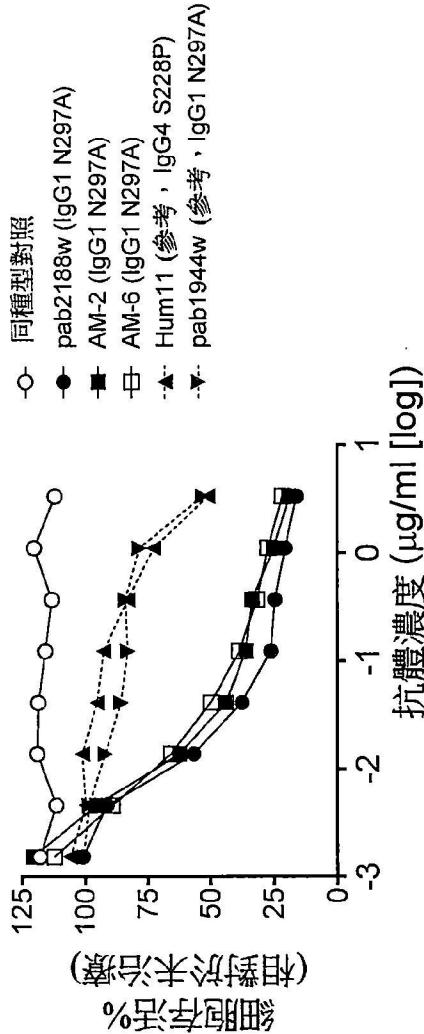


圖 14B

Kasumi-3 細胞

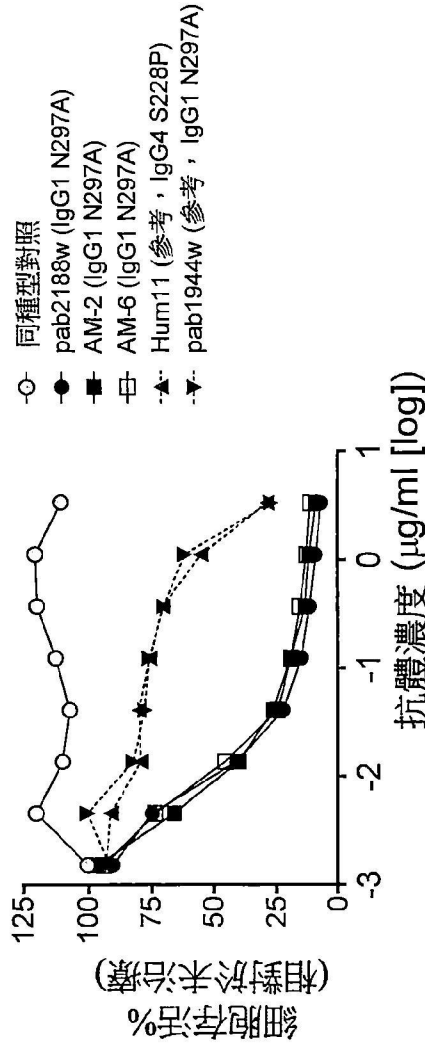


圖 14C

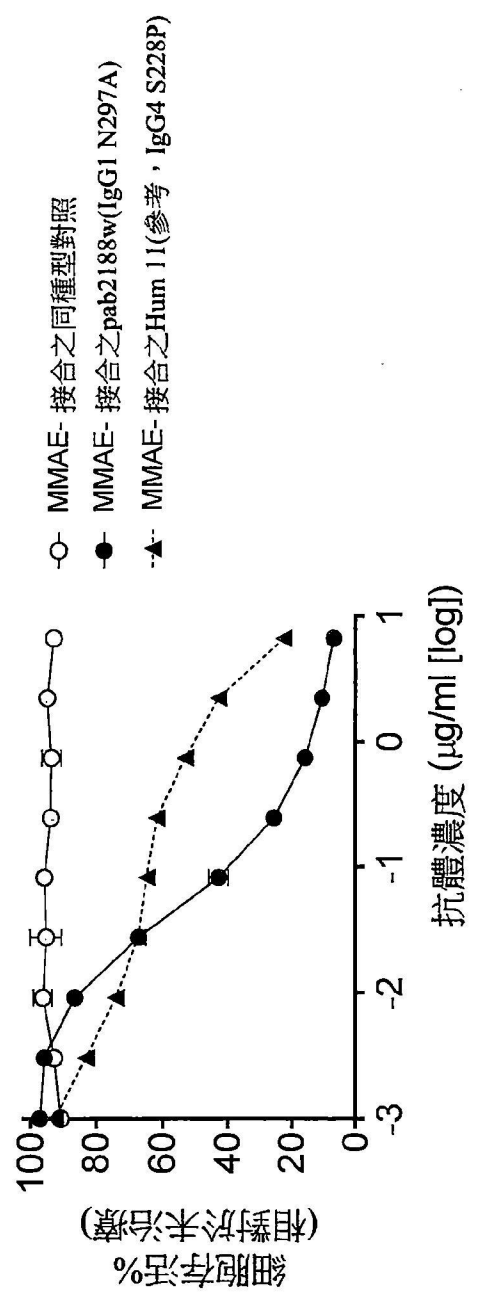


圖 15

