



(12) 发明专利申请

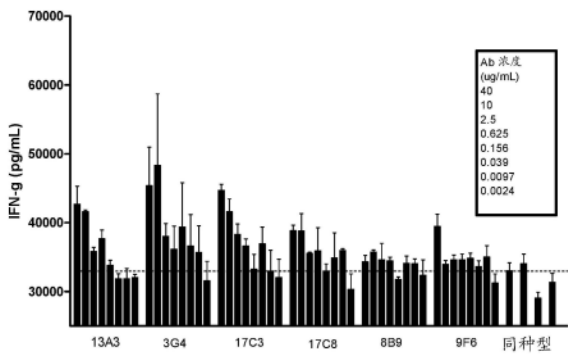
(10) 申请公布号 CN 117683135 A

(43) 申请公布日 2024. 03. 12

(21) 申请号 202311725662.0
(22) 申请日 2017.07.13
(30) 优先权数据
62/362541 2016.07.14 US
62/459499 2017.02.15 US
(62) 分案原申请数据
201780056616.2 2017.07.13
(71) 申请人 百时美施贵宝公司
地址 美国新泽西州
(72) 发明人 X.M. 谢拜 M.J. 塞尔比 M.M. 韩
C.比 A.X. 邓 A. 春塔拉派
B. 德沃 H. 李 P.O. 谢泼德
A.J. 科曼 D.F. 阿杜雷尔
E. 德亚诺瓦 R. 黄 G. 陈 M. 库恩
H-A. 长
(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 李唐 彭昶
(51) Int. Cl.
C07K 16/28 (2006.01)
权利要求书1页 说明书158页
序列表(电子公布) 附图76页

(54) 发明名称
针对TIM3的抗体及其用途

(57) 摘要
本发明涉及针对TIM3的抗体及其用途。本文提供了结合含有T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域-3(TIM3)蛋白的抗体或其抗原结合部分。还提供了这些抗体或其抗原结合部分在治疗应用例如治疗癌症中的用途。进一步提供了产生所述抗体或其抗原结合部分的细胞、编码所述抗体或其抗原结合部分的重链和/或轻链区的多核苷酸以及包含编码所述抗体或其抗原结合部分的重链和/或轻链区的多核苷酸的载体。



1. 分离的抗体(例如人抗体)或其抗原结合部分,其结合人含有T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域-3(TIM3)并展示出以下特性:

- (a) 结合可溶性人TIM3;
- (b) 结合膜结合的人TIM3;
- (c) 诱导或增强T细胞活化;和任选地:
- (d) 结合可溶性食蟹猴TIM3;和
- (e) 结合膜食蟹猴TIM3。

2. 权利要求1的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体刺激抗肿瘤免疫应答。

3. 权利要求1或2的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体刺激抗原特异性T细胞应答。

4. 前述权利要求中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体增加表达TIM3的T细胞中的IFN- γ 产生。

5. 前述权利要求中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体增加T细胞增殖。

6. 前述权利要求中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体不结合Fc受体,或其中所述抗体缺乏效应子功能。

7. 前述权利要求中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中如通过Biacore所测量的,所述抗体以10nM或更低的 K_D 结合可溶性人TIM3。

8. 前述权利要求中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中如通过Biacore所测量的,所述抗体以100nM或更低的 K_D 结合可溶性食蟹猴TIM3。

9. 前述权利要求中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是抑制通过TIM3的负细胞(例如T细胞)信号传导的拮抗剂抗体。

10. 前述权利要求中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中如通过流式细胞术所测量的,所述抗体以0.1或1 μ g/mL或更低的 EC_{50} 结合膜结合的人TIM3。

针对TIM3的抗体及其用途

本申请是申请日为2017年7月13日的中国专利申请201780056616.2“针对TIM3的抗体及其用途”的分案申请。

[0001] 相关申请的交叉引用

本申请要求于2016年7月14日提交的美国临时申请号62/362,541和于2017年2月15日提交的美国临时申请号62/459,499的优先权权益,所述申请各自以其整体通过引用并入本文。

[0002] 对经EFS-WEB电子提交的序列表的引用

随同本申请提交的以ASCII文本文件的电子提交的序列表(名称:3338_052PC02_序列表;大小:779,837字节;和创建日:2017年7月10日)的内容以其整体通过引用并入本文。

背景技术

含有T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域-3(TIM3),也称为甲型肝炎病毒细胞受体2(HAVCR2),是I型跨膜蛋白,其作为免疫应答的关键调节因子发挥功能。TIM3最初在活化的产生IFN- γ 的T细胞(例如,1型辅助CD4⁺ T细胞和细胞毒性CD8⁺ T细胞)上被鉴定,并显示出在结合半乳凝集素-9后诱导T细胞死亡或衰竭。最近的研究已表明TIM3表达在调节许多先天免疫细胞(例如,巨噬细胞、单核细胞、树突细胞、肥大细胞和自然杀伤细胞)的活性中也是重要的。参见Han G等人,Front Immunol.4:449(2013)。

[0004] 与许多抑制性受体(例如,PD-1和CTLA-4)一样,TIM3表达与许多类型的慢性疾病(包括癌症)相关。已在晚期黑素瘤、非小细胞肺癌或滤泡性B细胞非霍奇金淋巴瘤患者中检测到TIM3⁺ T细胞。并且TIM3⁺调节性T细胞的存在已被描述为肺癌进展的有效指标。参见Anderson AC.Cancer Immunol Res.2:393-8(2014)。

[0005] 已经鉴定了TIM3的几种潜在配体:半乳凝集素-9、HMGB1、Semaphorin-4A、CEACAM-1、ILT-4和磷脂酰丝氨酸(PtdSer或PS)。PS是重要的细胞膜成分,且通常定位于细胞膜的内小叶。但是当细胞经历细胞凋亡时,PS被重新分布并暴露于外膜。在许多肿瘤细胞系中也观察到这种重新分布。参见Riedl S等人,Biochim Biophys Acta.1808:2638-2645(2011)。TIM3与PS的结合可能对吞噬作用和交叉呈递至关重要。参见Nakayama M等人,Blood.113:3821-30(2009)。

[0006] 研究已表明TIM3与抑制性受体PD-1之间的密切关系。例如,许多肿瘤特异性T细胞表达PD-1和TIM3,并且与仅表达PD-1或TIM3的T细胞相比,已显示这些T细胞功能失调更多。参见Fourcade J等人,J Exp Med.207:2175-2186(2010)。

[0007] 因此,对于设计新的癌症免疫疗法和改进传统的癌症免疫疗法而言,靶向TIM3的药剂和使用这些药剂的方法是高度期望的。

发明内容

本文提供了特异性结合TIM3并具有期望的功能特性的分离的抗体,例如单克隆抗

体,特别是人(例如,单克隆)抗体。这些特性包括例如与人TIM3结合、与猴TIM3(例如,食蟹猴TIM3)结合的高亲和力,以及诸如在携带肿瘤或携带病毒(病毒感染的)的主体中刺激免疫应答(例如抗原特异性T细胞应答)的能力以及检测样品中的TIM3蛋白的能力。

[0009] 在一个方面,与TIM3结合的分离的抗体或其抗原结合部分表现出以下特性中的至少一种:

- (a) 结合可溶性和/或膜结合的人TIM3;
- (b) 结合可溶性和/或膜结合的食蟹猴TIM3;
- (c) 诱导或刺激免疫应答;
- (d) 诱导或刺激T细胞活化,例如Th1细胞活化(如例如通过增强的细胞因子分泌和/或增殖所证明);
- (e) 诱导或刺激T细胞增殖(例如,CD4⁺、CD8⁺ T细胞、Th1细胞或TIL),例如,在共培养测定中,如实施例所述;
- (f) 诱导或刺激通过T细胞(例如Th1细胞或肿瘤浸润淋巴细胞(TIL),例如来自人肾、肺、胰腺或乳腺癌肿瘤的TIL)的IFN- γ 产生,如例如在实施例所述的测定中所测定的;
- (g) 阻断或抑制人TIM3与PtdSer的结合,如例如在实施例所述的测定中所测定的;
- (h) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;
- (i) 结合人TIM3胞外结构域(a)CPVFECG(SEQ ID NO:296);(b)RIQIPGIMND(SEQ ID NO:298);(c)CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);或(d)WTSRYWLNDFR(SEQ ID NO:297);
- (j) 与本文所述的结合TIM3的抗体(例如,13A3、3G4、17C3、17C8、9F6或TIM3.2至TIM3.18中的任一种)竞争或交叉阻断结合人TIM3,如例如在实施例所述的测定中所测定的;
- (k) 结合人TIM3,但不结合具有以下氨基酸残基的一种或多种的氨基酸取代的人TIM3:L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120,如SEQ ID NO:286(图20)中编号的;
- (l) 结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:368)和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:373),如通过HDX-MS所测定的;
- (m) 具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120和任选T70和/或I112,如由X射线晶体学所测定的;和/或
- (n) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3,例如,如实施例所述的。

[0010] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分刺激抗肿瘤免疫应答,例如抗原特异性T细胞应答。在其他实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分增加表达TIM3的T细胞中的细胞因子产生(例如,IFN- γ)和/或增加T细胞增殖。在一些实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分不结合Fc受体。

[0011] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分以如通过Biacore测量的10nM或更低的 K_D 结合可溶性人TIM3,以如通过Scatchard测量的1nM或更低的 K_D 结合膜结合的人TIM3,以如通过Biacore测量的100nM或更低的 K_D 结合可溶性食蟹猴TIM3,以如通过流式细胞术测量的1 μ g/mL或更低的 EC_{50} 结合膜结合的人TIM3,以如通过流式细胞术测量的0.1 μ g/mL或更低的 EC_{50} 结合膜结合的人TIM3,以如通过流式细胞术测量的1 μ g/mL或更低的 EC_{50} 结合膜结合的食蟹猴TIM3,以如通过Scatchard测量的1nM或更低的 K_D 结合膜结合的食蟹猴TIM3。

[0012] 本文提供分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3并包含重链CDR1、CDR2和CDR3以及轻链CDR1、CDR2和CDR3,其中重链CDR3包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129。

[0013] 在某些实施方案中,重链CDR1包含X1、X2、X3、X4、X5和X6,并且其中X1是S或无,X2是R或无,X3是S、R或D,X4是Y或H,X5是W或M,并且X6是G、N、S或H。在其他实施方案中,重链CDR1包含X1、Y、Y、M和X2,并且其中X1是S或D且X2是H或S。在一些实施方案中,重链CDR1包含R、X1、Y、W和X2,并且其中X1是H或Y且X2是N或S。

[0014] 在一个实施方案中,重链CDR2包含X1、I、X2、X3、X4、G、X5、X6、X7、X8、Y、X9、X10、X11、X12、X13和X14,并且其中X1是S、Y、I或F,X2是Y、H、N或S,X3是Y、P、G、T或S,X4是S、T、R或G,X5是F、S或D,X6是S、T或I,X7是I或无,X8是Y、N、或I,X9是N、Q、S或A,X10是P、S、Q或D,X11是S或K,X12是L、F或V,X13是K或Q,且X14是S或G。在另一个实施方案中,重链CDR2包含Y、I、H、Y、X1、G、S、T、N、Y、N、X2、S、L、K和S,且其中X1是S或T,且X2是S或P。在一些实施方案中,重链CDR2包含F、I、S、X1、X2、G、S、X3、I、Y、Y、A、D、S、V、K和G,且其中X1是G、T或S,X2是G或S,且X3是T或I。在其他实施方案中,重链CDR2包含I、I、N、P、R、G、D、S、I、I、Y、A、Q、K、F、Q和G。

[0015] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分包含含有SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65的轻链CDR1、含有SEQ ID NO:66或SEQ ID NO:67的轻链CDR2和/或包含SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:71的轻链CDR3。

[0016] 本文提供了分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3并且包含重链CDR1、CDR2和CDR3以及轻链CDR1、CDR2和CDR3,其中

(a) 重链CDR1选自SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44和SEQ ID NO:45;

(b) 重链CDR2选自SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124和SEQ ID NO:125;

(c) 重链CDR3选自SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129;

(d) 轻链CDR1包含SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65;

(e) 轻链CDR2包含SEQ ID NO:66或SEQ ID NO:67;和

(f) 轻链CDR3包含SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:71。

[0017] 本文提供了分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3并包含:

(a1) 分别包含SEQ ID NO:41、46、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a2) 分别包含SEQ ID NO:41、122、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a3) 分别包含SEQ ID NO:41、123、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a4) 分别包含SEQ ID NO:41、124、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a5) 分别包含SEQ ID NO:41、46、126的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a6) 分别包含SEQ ID NO:41、46、127的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a7) 分别包含SEQ ID NO:41、46、128的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a8) 分别包含SEQ ID NO:41、46、129的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a9) 分别包含SEQ ID NO:41、122、128的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a10) 分别包含SEQ ID NO:41、122、126的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(b1) 分别包含SEQ ID NO:42、47、54的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、69的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(b2) 分别包含SEQ ID NO:42、125、54的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、69的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(c) 分别包含SEQ ID NO:43、48和55的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(d) 分别包含SEQ ID NO:44、49和56的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(e) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(f) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和71的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(g) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:65、67和70的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(h) 分别包含SEQ ID NO:45、51和58的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(i) 分别包含SEQ ID NO:45、52和59的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

[0018] 本文提供了分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3并包含重链和轻链可变

区,其中重链可变区包含与选自SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121和364的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同一性的氨基酸序列,和/或其中轻链可变区包含与选自SEQ ID NO:60、61、62和63的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同一性的氨基酸序列。

[0019] 本文提供了分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3并与包含VH和VL的参考抗体交叉竞争结合人TIM3,其中VH和VL选自:

(a) 包含SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(b) 包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(c) 包含SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(d) 包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(e) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(f) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VL;

(g) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL;

(h) 包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(i) 包含SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(j) 分别包含SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL;

(k) 分别包含SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(l) 分别包含SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(m) 分别包含SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(n) 分别包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(o) 分别包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(p) 分别包含SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的

氨基酸序列的VL;

(q) 分别包含SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(r) 分别包含SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(s) 分别包含SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;和

(t) 分别包含SEQ ID NO:364所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL。

[0020] 在一个实施方案中,分离的抗TIM3抗体或其抗原结合部分在与如参考抗体相同的表位处结合TIM3。

[0021] 在其他实施方案中,分离的抗TIM3抗体或其抗原结合部分包含选自以下的VH和VL:

(a) 包含SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(b) 包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(c) 包含SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(d) 包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(e) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(f) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VL;

(g) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL;

(h) 包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(i) 包含SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(j) 分别包含SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL;

(k) 分别包含SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(l) 分别包含SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(m) 分别包含SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(n) 分别包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(o) 分别包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(p) 分别包含SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(q) 分别包含SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(r) 分别包含SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(s) 分别包含SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;和

(t) 分别包含SEQ ID NO:364所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL。

[0022] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分选自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其变体。在一些实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分包含无效应子(effectorless) IgG1 Fc,其包含以下突变:L234A、L235E、G237A和任选A330S和P331S。在其他实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分包含含有选自SEQ ID NO:130-133的氨基酸序列的重链恒定区。在某些实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分是人或人源化抗体。

[0023] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分特异性结合人TIM3并包含

(a1) 分别包含SEQ ID NO:301 (或302) 和29的重链和轻链序列;

(a2) 分别包含SEQ ID NO:1 (或8) 和29的重链和轻链序列;

(a3) 分别包含SEQ ID NO:15 (或22) 和29的重链和轻链序列;

(a4) 分别包含SEQ ID NO:303 (或304) 和29的重链和轻链序列;

(a5) 分别包含SEQ ID NO:72 (或82) 和29的重链和轻链序列;

(a6) 分别包含SEQ ID NO:92 (或102) 和29的重链和轻链序列;

(a7) 分别包含SEQ ID NO:305 (或306) 和29的重链和轻链序列;

(a8) 分别包含SEQ ID NO:73 (或83) 和29的重链和轻链序列;

(a9) 分别包含SEQ ID NO:93 (或103) 和29的重链和轻链序列;

(a10) 分别包含SEQ ID NO:307 (或308) 和29的重链和轻链序列;

(a11) 分别包含SEQ ID NO:74 (或84) 和29的重链和轻链序列;

(a12) 分别包含SEQ ID NO:94 (或104) 和29的重链和轻链序列;

(a13) 分别包含SEQ ID NO:309 (或310) 和29的重链和轻链序列;

(a14) 分别包含SEQ ID NO:75 (或85) 和29的重链和轻链序列;

(a15) 分别包含SEQ ID NO:95 (或105) 和29的重链和轻链序列;

(a16) 分别包含SEQ ID NO:311 (或312) 和29的重链和轻链序列;

(a17) 分别包含SEQ ID NO:76 (或86) 和29的重链和轻链序列;

(a18) 分别包含SEQ ID NO:96 (或106) 和29的重链和轻链序列;

(a19) 分别包含SEQ ID NO:313 (或314) 和29的重链和轻链序列;

- (a20) 分别包含SEQ ID NO:77 (或87) 和29的重链和轻链序列;
- (a21) 分别包含SEQ ID NO:97 (或107) 和29的重链和轻链序列;
- (a22) 分别包含SEQ ID NO:315 (或316) 和29的重链和轻链序列;
- (a23) 分别包含SEQ ID NO:78 (或88) 和29的重链和轻链序列;
- (a24) 分别包含SEQ ID NO:98 (或108) 和29的重链和轻链序列;
- (a25) 分别包含SEQ ID NO:317 (或318) 和29的重链和轻链序列;
- (a26) 分别包含SEQ ID NO:79 (或89) 和29的重链和轻链序列;
- (a27) 分别包含SEQ ID NO:99 (或109) 和29的重链和轻链序列;
- (a28) 分别包含SEQ ID NO:319 (或320) 和29的重链和轻链序列;
- (a29) 分别包含SEQ ID NO:349 (或350) 和29的重链和轻链序列;
- (a30) 分别包含SEQ ID NO:351 (或352) 和29的重链和轻链序列;
- (a31) 分别包含SEQ ID NO:353 (或354) 和29的重链和轻链序列;
- (b1) 分别包含SEQ ID NO:321 (或322) 和30的重链和轻链序列;
- (b2) 分别包含SEQ ID NO:2 (或9) 和30的重链和轻链序列;
- (b3) 分别包含SEQ ID NO:16 (或23) 和30的重链和轻链序列;
- (b4) 分别包含SEQ ID NO:323 (或324) 和30的重链和轻链序列;
- (b5) 分别包含SEQ ID NO:80 (或90) 和30的重链和轻链序列;
- (b6) 分别包含SEQ ID NO:100 (或110) 和30的重链和轻链序列;
- (b7) 分别包含SEQ ID NO:325 (或326) 和30的重链和轻链序列;
- (c1) 分别包含SEQ ID NO:327 (或328) 和30的重链和轻链序列;
- (c2) 分别包含SEQ ID NO:3 (或10) 和30的重链和轻链序列;
- (c3) 分别包含SEQ ID NO:17 (或24) 和30的重链和轻链序列;
- (c4) 分别包含SEQ ID NO:329 (或330) 和30的重链和轻链序列;
- (d1) 分别包含SEQ ID NO:331 (或332) 和29的重链和轻链序列;
- (d2) 分别包含SEQ ID NO:4 (或11) 和29的重链和轻链序列;
- (d3) 分别包含SEQ ID NO:18 (或25) 和29的重链和轻链序列;
- (d4) 分别包含SEQ ID NO:333 (或334) 和29的重链和轻链序列;
- (e11) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和32的重链和轻链序列;
- (e12) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和33的重链和轻链序列;
- (e13) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和33的重链和轻链序列;
- (e2) 分别包含SEQ ID NO:5 (或12) 和33的重链和轻链序列;
- (e3) 分别包含SEQ ID NO:19 (或26) 和33的重链和轻链序列;
- (e4) 分别包含SEQ ID NO:337 (或338) 和33的重链和轻链序列;
- (e5) 分别包含SEQ ID NO:81 (或91) 和33的重链和轻链序列;
- (e6) 分别包含SEQ ID NO:101 (或111) 和33的重链和轻链序列;
- (e7) 分别包含SEQ ID NO:339 (或340) 和33的重链和轻链序列;
- (f1) 分别包含SEQ ID NO:341 (或342) 和29的重链和轻链序列;
- (f2) 分别包含SEQ ID NO:6 (或13) 和29的重链和轻链序列;
- (f3) 分别包含SEQ ID NO:20 (或27) 和29的重链和轻链序列;

(f4) 分别包含SEQ ID NO:343 (或344) 和29的重链和轻链序列;

(g1) 分别包含SEQ ID NO:345 (或346) 和30的重链和轻链序列;

(g2) 分别包含SEQ ID NO:7 (或14) 和30的重链和轻链序列;

(g3) 分别包含SEQ ID NO:21 (或28) 和30的重链和轻链序列;或 (g4) 分别包含SEQ ID NO:347 (或348) 和30的重链和轻链序列。

[0024] 在其他实施方案中,抗TIM3抗体或其抗原结合部分具有以下特性中的一种或多种:(1) 例如以10nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合可溶性人TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(2) 例如以100nM或更低(例如0.01nM至100nM)的 K_D 结合可溶性食蟹猴TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至1 μ g/mL)的 EC_{50} 结合膜结合的人TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(4) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合膜结合的人TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至20 μ g/mL)的 EC_{50} 结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(6) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(7) 诱导或增强T细胞活化(例如,通过阻断或降低TIM3的抑制作用),如通过(i) 表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生增加和/或(ii) 表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)的增殖增强所证实,例如如实施例中所述的;

(8) 在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中刺激T细胞增殖,例如如实施例中所述的;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合,例如如通过PS-hTIM3“串联(in-tandem)”阻断测定所测量的,例如如实施例中所述的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的下列区域之一:(a) CPVFECG (SEQ ID NO:296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO:298); (c) CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);和(d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO:297),例如如实施例中所述的;

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与这样的人TIM3的结合,在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120(如SEQ ID NO:286(图20)中所编号)中的一个或多个被另一种氨基酸取代,例如如实施例中所述的;

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、或TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17和TIM3.18,例如如实施例中所述的;

(14) 如通过HDX-MS所测定的,结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367) 和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368),例如如实施例中所述的;

(15) 如通过X射线晶体学所测定的,具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、

20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120,和任选T70和/或I112,(例如在实施例中所述的;根据SEQ ID NO:286(图20)编号);和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与其中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120和任选D104和Q113(根据SEQ ID NO:286(图20)编号)中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合;(b) 如通过HDX-MS所测定的,结合⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:368)和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:373),如实施例中所述的;和/或(c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3,例如如实施例中所述的。

[0025] 本文提供了包含与具有第二结合特异性的分子连接的抗TIM3抗体的双特异性分子。

[0026] 本文提供了编码抗TIM3抗体或其抗原结合部分的重链和/或轻链可变区的核酸、包含核酸分子的表达载体和用表达载体转化的细胞。

[0027] 本文提供了包含与药剂连接的本文所述的抗TIM3抗体的免疫缀合物。

[0028] 本文提供了包含本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物和载体的组合物。本文还提供了试剂盒,所述试剂盒包含本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物以及使用说明书。

[0029] 本文提供了制备抗TIM3抗体或其抗原结合部分的方法,其包括在细胞中表达抗TIM3抗体或其抗原结合部分和从细胞中分离所述抗体或其抗原结合部分。

[0030] 本文提供了刺激抗原特异性T细胞应答的方法,其包括使T细胞与本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物接触,从而刺激抗原特异性T细胞应答(例如,通过抑制TIM3对细胞例如T细胞的负作用)。

[0031] 本文提供了是活化或共刺激T细胞例如效应T细胞(例如Th1细胞)的方法,其包括将细胞例如效应T细胞与本文所述的抗TIM3抗体、或其抗原结合部分、双特异性分子、或免疫缀合物和CD3接触,其中效应T细胞被活化或共刺激(例如,通过抑制TIM3对细胞例如T细胞的负作用)。

[0032] 本文提供了增加T细胞(例如Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生和/或T细胞(例如Th1细胞或TIL)增殖的方法,其包括使T细胞与有效量的本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物接触。

[0033] 本文提供了增加主体的T细胞中IFN- γ 产生的方法,其包括向主体施用有效量的本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物以增加从T细胞的IFN- γ 产生。

[0034] 本文提供了刺激主体中TIL活性的方法,其包括向主体施用治疗有效量的本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分,使得TIL增殖或分泌细胞因子例如IFN- γ 。

[0035] 本文提供了在主体中刺激NK细胞(例如通过增加NK细胞细胞毒活性)和/或巨噬细胞或其他抗原呈递细胞的方法,其包括向主体施用有效量的本文所述的抗TIM3抗体或抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物。例如,本文所述的抗TIM3抗体可以通过与TIM3抗体接触的抗原呈递细胞增加IL-12分泌。

[0036] 本文提供了刺激主体中的免疫应答的方法,其包括向主体施用本文所述的抗TIM3

抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物,从而刺激主体中的免疫应答。在某些实施方案中,主体具有肿瘤并且刺激针对肿瘤的免疫应答。

[0037] 本文提供了用于在主体中抑制肿瘤生长或减小肿瘤大小的方法,其包括向主体施用本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物,使得主体中肿瘤的生长受到抑制。

[0038] 本文提供了例如通过免疫疗法治疗癌症的方法,其包括向有需要的主体施用治疗有效量的本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物以治疗癌症。在某些实施方案中,癌症选自:膀胱癌、乳腺癌、子宫/子宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、食道癌、胃肠癌、胰腺癌、结肠直肠癌、结肠癌、肾癌、头颈癌、肺癌、胃癌、生殖细胞癌、骨癌、肝癌、甲状腺癌、皮肤癌、中枢神经系统肿瘤、淋巴瘤、白血病、骨髓瘤、肉瘤、病毒相关癌症其任何组合。在一些实施方案中,癌症是转移性癌症、难治性癌症或复发性癌症。在一些实施方案中,癌症是冷肿瘤(cold tumor)。

[0039] 在某些实施方案中,本文所述的方法连同抗TIM3抗体还包括一种或多种另外的治疗剂,例如抗PD-1抗体、抗LAG-3抗体、抗CTLA-4抗体、抗GITR抗体和/或抗PD-L1抗体。

[0040] 本文提供了检测样品中TIM3蛋白的存在的方法,其包括在允许抗体或其抗原结合部分与TIM3之间形成复合物的条件下使样品与抗TIM3抗体或其抗原结合部分接触,和检测复合物的形成。

[0041] 实施方案

实施方案1.分离的抗体(例如,人抗体)或其抗原结合部分,其结合人含有T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域-3(TIM3),其中所述抗体或其抗原结合部分包含重链CDR1、CDR2、和CDR3以及轻链CDR1、CDR2和CDR3,其中

(a)重链CDR1选自SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44和SEQ ID NO:45;

(b)重链CDR2选自SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124和SEQ ID NO:125;

(c)重链CDR3选自SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129;

(d)轻链CDR1包含SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65;

(e)轻链CDR2包含SEQ ID NO:66或SEQ ID NO:67;和

(f)轻链CDR3包含SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:71。

[0042] 实施方案2.分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3,所述抗体或其抗原结合部分包含:

(a1)分别包含SEQ ID NO:41、46、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a2)分别包含SEQ ID NO:41、122、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a3)分别包含SEQ ID NO:41、123、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含

SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a4) 分别包含SEQ ID NO:41、124、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a5) 分别包含SEQ ID NO:41、46、126的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a6) 分别包含SEQ ID NO:41、46、127的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a7) 分别包含SEQ ID NO:41、46、128的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a8) 分别包含SEQ ID NO:41、46、129的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a9) 分别包含SEQ ID NO:41、122、128的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a10) 分别包含SEQ ID NO:41、122、126的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(b1) 分别包含SEQ ID NO:42、47、54的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、69的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(b2) 分别包含SEQ ID NO:42、125、54的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、69的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(c) 分别包含SEQ ID NO:43、48和55的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(d) 分别包含SEQ ID NO:44、49和56的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(e) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(f) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和71的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(g1) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:65、67和70的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(g2) 分别包含SEQ ID NO:45、50、57的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、71的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(g3) 分别包含SEQ ID NO:45、50、57的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、69的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(h) 分别包含SEQ ID NO:45、51和58的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(i) 分别包含SEQ ID NO:45、52和59的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

[0043] 实施方案3.实施方案1或2的抗体或其抗原结合部分,其中重链可变区包含与选自SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121和364的

氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同一性的氨基酸序列,和/或轻链可变区包含与选自SEQ ID NO:60、61、62和63的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同一性的氨基酸序列。

[0044] 实施方案4.实施方案1至3中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分包含含有以下突变的无效因子IgG1 Fc:L234A、L235E、G237A和任选A330S和P331S。

[0045] 实施方案5.任何前述实施方案的抗体或其抗原结合部分,其包含含有选自SEQ ID NO:263-266的氨基酸序列的重链恒定区。

[0046] 实施方案6.任何前述实施方案的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分是人或人源化抗体。

[0047] 实施方案7.实施方案1-6中任一项的抗体,其中所述抗体包含:

- (a1) 分别包含SEQ ID NO:301(或302)和29的重链和轻链序列;
- (a2) 分别包含SEQ ID NO:1(或8)和29的重链和轻链序列;
- (a3) 分别包含SEQ ID NO:15(或22)和29的重链和轻链序列;
- (a4) 分别包含SEQ ID NO:303(或304)和29的重链和轻链序列;
- (a5) 分别包含SEQ ID NO:72(或82)和29的重链和轻链序列;
- (a6) 分别包含SEQ ID NO:92(或102)和29的重链和轻链序列;
- (a7) 分别包含SEQ ID NO:305(或306)和29的重链和轻链序列;
- (a8) 分别包含SEQ ID NO:73(或83)和29的重链和轻链序列;
- (a9) 分别包含SEQ ID NO:93(或103)和29的重链和轻链序列;
- (a10) 分别包含SEQ ID NO:307(或308)和29的重链和轻链序列;
- (a11) 分别包含SEQ ID NO:74(或84)和29的重链和轻链序列;
- (a12) 分别包含SEQ ID NO:94(或104)和29的重链和轻链序列;
- (a13) 分别包含SEQ ID NO:309(或310)和29的重链和轻链序列;
- (a14) 分别包含SEQ ID NO:75(或85)和29的重链和轻链序列;
- (a15) 分别包含SEQ ID NO:95(或105)和29的重链和轻链序列;
- (a16) 分别包含SEQ ID NO:311(或312)和29的重链和轻链序列;
- (a17) 分别包含SEQ ID NO:76(或86)和29的重链和轻链序列;
- (a18) 分别包含SEQ ID NO:96(或106)和29的重链和轻链序列;
- (a19) 分别包含SEQ ID NO:313(或314)和29的重链和轻链序列;
- (a20) 分别包含SEQ ID NO:77(或87)和29的重链和轻链序列;
- (a21) 分别包含SEQ ID NO:97(或107)和29的重链和轻链序列;
- (a22) 分别包含SEQ ID NO:315(或316)和29的重链和轻链序列;
- (a23) 分别包含SEQ ID NO:78(或88)和29的重链和轻链序列;
- (a24) 分别包含SEQ ID NO:98(或108)和29的重链和轻链序列;
- (a25) 分别包含SEQ ID NO:317(或318)和29的重链和轻链序列;
- (a26) 分别包含SEQ ID NO:79(或89)和29的重链和轻链序列;

(a27) 分别包含SEQ ID NO:99 (或109) 和29的重链和轻链序列;
(a28) 分别包含SEQ ID NO:319 (或320) 和29的重链和轻链序列;
(a29) 分别包含SEQ ID NO:349 (或350) 和29的重链和轻链序列;
(a30) 分别包含SEQ ID NO:351 (或352) 和29的重链和轻链序列;
(a31) 分别包含SEQ ID NO:353 (或354) 和29的重链和轻链序列;
(b1) 分别包含SEQ ID NO:321 (或322) 和30的重链和轻链序列;
(b2) 分别包含SEQ ID NO:2 (或9) 和30的重链和轻链序列;
(b3) 分别包含SEQ ID NO:16 (或23) 和30的重链和轻链序列;
(b4) 分别包含SEQ ID NO:323 (或324) 和30的重链和轻链序列;
(b5) 分别包含SEQ ID NO:80 (或90) 和30的重链和轻链序列;
(b6) 分别包含SEQ ID NO:100 (或110) 和30的重链和轻链序列;
(b7) 分别包含SEQ ID NO:325 (或326) 和30的重链和轻链序列;
(c1) 分别包含SEQ ID NO:327 (或328) 和30的重链和轻链序列;
(c2) 分别包含SEQ ID NO:3 (或10) 和30的重链和轻链序列;
(c3) 分别包含SEQ ID NO:17 (或24) 和30的重链和轻链序列;
(c4) 分别包含SEQ ID NO:329 (或330) 和30的重链和轻链序列;
(d1) 分别包含SEQ ID NO:331 (或332) 和29的重链和轻链序列;
(d2) 分别包含SEQ ID NO:4 (或11) 和29的重链和轻链序列;
(d3) 分别包含SEQ ID NO:18 (或25) 和29的重链和轻链序列;
(d4) 分别包含SEQ ID NO:333 (或334) 和29的重链和轻链序列;
(e1.1) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和32的重链和轻链序列;
(e1.2) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和33的重链和轻链序列;
(e1.3) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和31的重链和轻链序列;
(e2) 分别包含SEQ ID NO:5 (或12) 和33的重链和轻链序列;
(e3) 分别包含SEQ ID NO:19 (或26) 和33的重链和轻链序列;
(e4) 分别包含SEQ ID NO:337 (或338) 和33的重链和轻链序列;
(e5) 分别包含SEQ ID NO:81 (或91) 和33的重链和轻链序列;
(e6) 分别包含SEQ ID NO:101 (或111) 和33的重链和轻链序列;
(e7) 分别包含SEQ ID NO:339 (或340) 和33的重链和轻链序列;
(f1) 分别包含SEQ ID NO:341 (或342) 和29的重链和轻链序列;
(f2) 分别包含SEQ ID NO:6 (或13) 和29的重链和轻链序列;
(f3) 分别包含SEQ ID NO:20 (或27) 和29的重链和轻链序列;
(f4) 分别包含SEQ ID NO:343 (或344) 和29的重链和轻链序列;
(g1) 分别包含SEQ ID NO:345 (或346) 和29的重链和轻链序列;
(g2) 分别包含SEQ ID NO:7 (或43) 和30的重链和轻链序列;
(g3) 分别包含SEQ ID NO:21 (或28) 和30的重链和轻链序列;或 (g4) 分别包含SEQ ID NO:347 (或348) 和30的重链和轻链序列;

其中所述抗体特异性结合人TIM3。

[0048] 实施方案8. 实施方案1-7中任一项的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体或其

抗原结合部分具有以下特性中的一种或多种：

(1) 例如以10nM或更低(例如,0.01nM至10nM)的KD结合可溶性人TIM3,例如如通过Biacore所测量的;

(2) 例如以100nM或更低(例如,0.01nM至100nM)的KD结合可溶性食蟹猴TIM3,例如如通过Biacore所测量的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至1 μ g/mL)的EC50结合膜结合的人TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的;

(4) 例如以1nM或更低(例如,0.01nM至10nM)的KD结合膜结合的人TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至20 μ g/mL)的EC50结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的;

(6) 例如以1nM或更低(例如,0.01nM至10nM)的KD结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的;

(7) 诱导或增强T细胞活化(例如,通过阻断或降低TIM3的抑制作用),如通过(i)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生增加和/或(ii)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)的增殖增强所证实;

(8) 在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中刺激T细胞增殖;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合,例如如通过PS-hTIM3“串联”阻断测定所测量的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的下列区域之一:(a) CPVFECG(SEQ ID NO:296);(b) RIQIPGIMND(SEQ ID NO:298);(c) CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);和(d) WTSRYWLNDFR(SEQ ID NO:297);

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与其中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120中的一个或多个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合;

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、或TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17和TIM3.18;

(14) 如通过HDX-MS所测定的结合人TIM3区49VPVCWGKGACPVFE62(SEQ ID NO:367)和111RIQIPGIMNDEKFNKL127(SEQ ID NO:368);

(15) 如通过X射线晶体学所测定的,具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120,和任选T70和/或I112(例如在实施例中所所述的;根据SEQ ID NO:286(图20)编号);和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与其中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120和任选D104和Q113(根据SEQ ID NO:286(图20)编号)中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合;(b) 如通过HDX-MS所测定的,结合49VPVCWGKGACPVFE62(SEQ ID NO:367)、111RIQIPGIMNDEKFNKL127(SEQ ID NO:368)和

119NDEKFNKL127 (SEQ ID NO:373), 如实施例中所所述的; 和/或(c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3。

[0049] 实施方案9. 双特异性分子, 其包含与具有第二结合特异性的分子连接的前述实施方案中任一项的抗体。

[0050] 实施方案10. 核酸, 其编码实施方案1至8中任一项的抗体或其抗原结合部分的重链和/或轻链可变区。

[0051] 实施方案11. 用实施方案10的核酸转化的细胞。

[0052] 实施方案12. 免疫缀合物, 其包含与药剂连接的实施方案1至8中任一项的抗体。

[0053] 实施方案13. 组合物, 其包含实施方案1-9和12中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物和载体。

[0054] 实施方案14. 试剂盒, 其包含实施方案1-9和12中任一项的抗体或其抗原结合部分、或双特异性分子或免疫缀合物和使用说明书。

[0055] 实施方案15. 在有需要的主体中刺激、增加或调节免疫应答或用于在有需要的主体中治疗癌症的方法, 其包括施用实施方案1-9和12中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物, 在施用后, 其中刺激抗原特异性T细胞应答, 其中活化或共刺激效应T细胞, 其中T细胞中IFN- γ 的产生增加, 其中T细胞的数量增加, 其中刺激TIL活性, 其中主体中肿瘤的大小减小, 其中抑制主体中的肿瘤生长, 或其任何组合。

[0056] 本公开的其他特征和优点从以下详述和实施例中将变得显而易见, 所述详述和实施例不应解释为限制性的。

附图说明

图1A显示抗TIM3单克隆抗体13A3的成熟重链可变(VH)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:167)和氨基酸序列(SEQ ID NO:34)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:41)、CDR2(SEQ ID NO:46)和CDR3(SEQ ID NO:53), 并显示了V、D和J种系来源。

[0058] 图1B显示抗TIM3单克隆抗体13A3的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:193)和氨基酸序列(SEQ ID NO:60)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:64)、CDR2(SEQ ID NO:66)和CDR3(SEQ ID NO:68), 并显示了V和J种系来源。

[0059] 图1C显示具有信号序列(分别为SEQ ID NO:274和269)的抗TIM3单克隆抗体13A3的重链VH区的核苷酸序列(SEQ ID NO:167)和氨基酸序列(SEQ ID NO:34), 和具有信号序列(分别为SEQ ID NO:273和268)的抗TIM3单克隆抗体13A3的轻链VL区的核苷酸序列(SEQ ID NO:193)和氨基酸序列(SEQ ID NO:60)。

[0060] 图2A显示抗TIM3单克隆抗体8B9的成熟重链可变(VH)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:168)和氨基酸序列(SEQ ID NO:35)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:42)、CDR2(SEQ ID NO:47)和CDR3(SEQ ID NO:54), 并显示了V、D和J种系来源。

[0061] 图2B显示抗TIM3单克隆抗体8B9的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:194)和氨基酸序列(SEQ ID NO:61)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:64)、CDR2(SEQ ID NO:66)和CDR3(SEQ ID NO:69), 并显示了V和J种系来源。

[0062] 图2C显示具有信号序列(分别为SEQ ID NO:274和269)的抗TIM3单克隆抗体8B9的重链VH区的核苷酸序列(SEQ ID NO:168)和氨基酸序列(SEQ ID NO:35), 和具有信号序列

(分别为SEQ ID NO:273和268)的抗TIM3单克隆抗体8B9的轻链VL区的核苷酸序列(SEQ ID NO:194)和氨基酸序列(SEQ ID NO:61)。

[0063] 图3A显示抗TIM3单克隆抗体8C4的成熟重链可变(VH)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:169)和氨基酸序列(SEQ ID NO:36)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:43)、CDR2(SEQ ID NO:48)和CDR3(SEQ ID NO:55),并显示了V、D和J种系来源。

[0064] 图3B显示抗TIM3单克隆抗体8C4的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:194)和氨基酸序列(SEQ ID NO:61)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:64)、CDR2(SEQ ID NO:66)和CDR3(SEQ ID NO:69),并显示了V和J种系来源。

[0065] 图3C显示具有信号序列(分别为SEQ ID NO:274和269)的抗TIM3单克隆抗体8C4的重链VH区的核苷酸序列(SEQ ID NO:169)和氨基酸序列(SEQ ID NO:36),和具有信号序列(分别为SEQ ID NO:273和268)的抗TIM3单克隆抗体8C4的轻链VL区的核苷酸序列(SEQ ID NO:194)和氨基酸序列(SEQ ID NO:61)。

[0066] 图4A显示抗TIM3单克隆抗体17C3的成熟重链可变(VH)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:170)和氨基酸序列(SEQ ID NO:37)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:44)、CDR2(SEQ ID NO:49)和CDR3(SEQ ID NO:56),并显示了V、D和J种系来源。

[0067] 图4B显示抗TIM3单克隆抗体17C3的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:193)和氨基酸序列(SEQ ID NO:60)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:64)、CDR2(SEQ ID NO:66)和CDR3(SEQ ID NO:68),并显示了V和J种系来源。

[0068] 图4C显示具有信号序列(分别为SEQ ID NO:272和267)的抗TIM3单克隆抗体17C3的重链VH区的核苷酸序列(SEQ ID NO:170)和氨基酸序列(SEQ ID NO:37),和具有信号序列(分别为SEQ ID NO:273和268)的抗TIM3单克隆抗体17C3的轻链VL区的核苷酸序列(SEQ ID NO:193)和氨基酸序列(SEQ ID NO:60)。

[0069] 图5A显示抗TIM3单克隆抗体9F6的成熟重链可变(VH)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:171)和氨基酸序列(SEQ ID NO:38)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:45)、CDR2(SEQ ID NO:50)和CDR3(SEQ ID NO:57),并显示了V、D和J种系来源。

[0070] 图5B显示抗TIM3单克隆抗体9F6的VK1的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:195)和氨基酸序列(SEQ ID NO:62)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:65)、CDR2(SEQ ID NO:67)和CDR3(SEQ ID NO:70),并显示了V和J种系来源。

[0071] 图5C显示抗TIM3单克隆抗体9F6的VK2的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:196)和氨基酸序列(SEQ ID NO:63)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:64)、CDR2(SEQ ID NO:66)和CDR3(SEQ ID NO:71),并显示了V和J种系来源。

[0072] 图5D显示抗TIM3单克隆抗体9F6的VK3的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:194)和氨基酸序列(SEQ ID NO:61)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:64)、CDR2(SEQ ID NO:66)和CDR3(SEQ ID NO:69),并显示了V和J种系来源。

[0073] 图5E显示具有信号序列(分别为SEQ ID NO:275和270)的抗TIM3单克隆抗体9F6的重链VH区的核苷酸序列(SEQ ID NO:171)和氨基酸序列(SEQ ID NO:38),和具有信号序列(分别为SEQ ID NO:276和271)的抗TIM3单克隆抗体9F6的VK1、VK2和VK3的轻链VL区的核苷酸序列(分别为SEQ ID NO:195、196和194)和氨基酸序列(分别为SEQ ID NO:62、63和61)。

[0074] 图6A显示抗TIM3单克隆抗体3G4的成熟重链可变(VH)区的核苷酸序列(SEQ ID

NO:172)和氨基酸序列(SEQ ID NO:39)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:45)、CDR2(SEQ ID NO:51)和CDR3(SEQ ID NO:58),并显示了V、D和J种系来源。

[0075] 图6B显示抗TIM3单克隆抗体3G4的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:193)和氨基酸序列(SEQ ID NO:60)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:64)、CDR2(SEQ ID NO:66)和CDR3(SEQ ID NO:68),并显示了V和J种系来源。

[0076] 图6C显示具有信号序列(分别为SEQ ID NO:275和270)的抗TIM3单克隆抗体3G4的重链VH区的核苷酸序列(SEQ ID NO:172)和氨基酸序列(SEQ ID NO:39),和具有信号序列(分别为SEQ ID NO:273和268)的抗TIM3单克隆抗体3G4的轻链VL区的核苷酸序列(SEQ ID NO:193)和氨基酸序列(SEQ ID NO:60)。

[0077] 图7A显示抗TIM3单克隆抗体17C8的成熟重链可变(VH)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:173)和氨基酸序列(SEQ ID NO:40)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:45)、CDR2(SEQ ID NO:52)和CDR3(SEQ ID NO:59),并显示了V、D和J种系来源。

[0078] 图7B显示抗TIM3单克隆抗体17C8的成熟轻链可变(VL)区的核苷酸序列(SEQ ID NO:194)和氨基酸序列(SEQ ID NO:61)。描绘了CDR1(SEQ ID NO:64)、CDR2(SEQ ID NO:66)和CDR3(SEQ ID NO:69),并显示了V和J种系来源。

[0079] 图7C显示具有信号序列(分别为SEQ ID NO:275和270)的抗TIM3单克隆抗体17C8的重链VH区的核苷酸序列(SEQ ID NO:173)和氨基酸序列(SEQ ID NO:40),和具有信号序列(分别为SEQ ID NO:273和268)的抗TIM3单克隆抗体17C8的轻链VL区的核苷酸序列(SEQ ID NO:194)和氨基酸序列(SEQ ID NO:61)。

[0080] 图8A显示单克隆抗体13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的重链可变(VH)区的序列比对。将互补决定区(CDR)加框显示。

[0081] 图8B列出了抗体的VH区、各个CDR及其突变体的SEQ ID NO。

[0082] 图9A显示单克隆抗体13A3、8B9、8C4、17C3、9F6_VK1、9F6_VK2、9F6_VK3、3G4和17C8的轻链可变(VL)区的序列比对。将互补决定区(CDR)加框显示。

[0083] 图9B列出了抗体的VL区和各个CDR的SEQ ID NO。

[0084] 图10显示单克隆抗体TIM3.5(13A3)及其示例性变体:TIM3.13(D101E)、TIM3.14(P102V)、TIM3.15(P102Y)、TIM3.16(P102L)、TIM3.17(N60Q/P102Y)、TIM3.18(N60Q/D101E)、TIM3.10(N60Q)、TIM3.11(N60S)和TIM3.12(N60A)的成熟全长重链(HC)的序列比对。将各重链的VH区加下划线显示。

[0085] 图11显示单克隆抗体9F6及其示例性变体TIM3.7(A108T)的成熟全长HC的序列比对。将各重链的VH区加下划线显示。

[0086] 图12显示单克隆8B9及其示例性变体TIM3.8(S61P)的成熟全长HC的序列比对。将各重链的VH区加下划线显示。

[0087] 图13列出了杂交瘤衍生抗体(13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8)和重组(TIM3.2-TIM3.18)抗人TIM3抗体的全长重链和轻链、可变区和CDR的SEQ ID NO。还显示重链和轻链的同种型。“H.n.”指杂交瘤名称。图13中提及的重链和轻链可以衍生自其元件,例如本文公开的可变区和恒定区。当SEQ ID NO没有出现在表的第二页或第三页上的给定列中时,则它在其前面的页面或在该页面之前的页面中的那一列中提供。

[0088] 图14A-14B显示抗TIM3抗体与人TIM3转染的CHO细胞(图14A)和活化的人T细胞(图

14B)的结合曲线和 EC_{50} 。

[0089] 图15A-15B显示抗TIM3抗体与食蟹猴TIM3转染的CHO细胞(图15A)和活化的食蟹猴T细胞(图15B)的结合曲线和 EC_{50} 。

[0090] 图16显示促进从肾细胞癌(RCC)中的肿瘤浸润性白细胞(TIL)的IFN- γ 产生的抗TIM3活性(在各种抗体浓度下)。如所示,每种抗体的8个柱代表不同浓度的抗体。

[0091] 图17A-17B显示促进从肺癌TIL的IFN- γ 产生的抗TIM3活性(在各种抗体浓度下)(图17A, IFN- γ ELISA;图17B, 细胞内IFN- γ 染色)。在图17A中,如所示,每种抗体的个别柱形代表不同浓度的抗体。在图17B中,上图显示 $CD4^+$ 细胞且下图显示 $CD8^+$ 细胞。用8B9(x轴)测量TIM3的水平。

[0092] 图18显示了抗TIM-3抗体(即抗体13A3和3G4)在CHO-OKT3细胞存在的情况下促进从各种组织分离的TIL的IFN- γ 分泌。

[0093] 图19显示TIM-3抗体在活化的人T细胞上的抗TIM-3交叉阻断。

[0094] 图20显示了抗TIM3单克隆抗体13A3、3G4、17C3和8B9与人TIM3结合所必需的氨基酸残基。信号序列和跨膜结构域标加下划线显示。

[0095] 图21A-21B显示某些抗TIM3抗体阻断人TIM3和PS-脂质体之间的相互作用。图21A显示磷脂酰丝氨酸(PS)-hTIM3“串联”阻断测定的示意图。图21B显示如通过图21A中所示的PS-hTIM3“串联”阻断测定所测量的,通过某些抗TIM3抗体阻断hTIM3-Fc与PS-脂质体的结合。

[0096] 图22显示各种抗TIM3抗体(例如TIM3.5、TIM3.4、TIM3.2、TIM3.9、9F6、TIM3.8和TIM3.6)的功能活性的概述。提供了结合测定、T细胞测定、TIL测定和PS-TIM3阻断测定的数据。

[0097] 图23提供所有SEQ ID编号连同由SEQ ID编号表示的序列的描述的列表。

[0098] 图24A-24B显示在CT26结肠直肠肿瘤小鼠模型中组合施用抗PD1和抗TIM3抗体的抗肿瘤活性。图24A显示在用(i)对照IgG(左上图)、(ii)单独RMT3-23抗TIM3抗体(右上图)、(iii)单独RMP1-14抗PD1抗体(左下图)和(iv)RMT3-23抗TIM3和RMP1-14抗PD1抗体的组合(右下图)处理的小鼠($n=10$ /组)中肿瘤植入后不同时间点的肿瘤体积。图24B显示用(i)单独RMT3-23抗TIM3抗体、(ii)单独的AbM抗TIM3抗体、(iii)单独RMP1-14抗PD1抗体、(iv)RMT3-23抗TIM3和RMP1-14抗PD1抗体的组合、(v)Ab M抗TIM3和RMP1-14抗PD1抗体的组合和(vi)同种型对照抗体处理的小鼠中随时间(肿瘤植入后天数)的平均肿瘤体积。

[0099] 图25显示了使用氢/氘交换质谱(HDX-MS)用于作图抗TIM3抗体(13A3和3G4)的表位的hTIM-3的常见肽列表。每个柱表示消化的肽。带圆圈的残基(即N99、T145和N172)表示糖基化位点。

[0100] 图26显示使用HDX-MX鉴定的抗TIM3抗体(13A3和3G4)的人TIM-3结合区。上图显示13A3抗TIM3抗体的结合区。下图显示3G4抗TIM3抗体的结合区。

[0101] 图27A-27B显示TIM3.18.IgG1.3对异位表达人或食蟹猴TIM3的CHO细胞的Scatchard分析结果。图27A显示 125 I-TIM3 Ab标准曲线。图27B显示与表达人(左图)和食蟹猴(右图)TIM3的CHO细胞结合的TIM3.18.IgG1.3抗体的量。

[0102] 图28显示TIM3.18.IgG1.3对来自两个供体(左图和右图)的活化的Th1细胞的Scatchard分析的结果。

[0103] 图29A和29B显示在极化的Th1/经照射的CHO-OKT3共培养测定中TIM3.18.IgG1.3和TIM3.18.IgG1.3 Fab增强Th1 T细胞的增殖。图29A显示用各种浓度的TIM3.18.IgG1.3、13A3(“13A3-g4”)或没有抗体或用同种型对照抗体(hIgG1.1和hIgG4)观察到的Th1细胞增殖。图29B显示用各种浓度的TIM3.18.IgG1.3 Fab或没有抗体或用同种型对照抗体IgG1.3观察到的Th1细胞增殖。

[0104] 图30显示在极化的Th1/经照射的CHO-OKT3-PD-L1共培养测定中抗-TIM3抗体TIM3.18.IgG1.3与纳武单抗的组合增强Th1 T细胞的增殖。

[0105] 图31显示抗TIM3抗体TIM3.18.IgG1.3增强用经照射的CHO-OKT3细胞刺激的肾细胞癌肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的干扰素- γ 分泌。

[0106] 图32显示抗TIM3抗体TIM3.18.IgG1.3增强用经照射的CHO-OKT3细胞刺激的乳腺癌TIL的干扰素- γ 分泌。

[0107] 图33显示用于A11oMLR(混合淋巴细胞反应)测定的M0巨噬细胞上的CD163、CD206和TIM3表达,其结果显示于图34中。

[0108] 图34显示在存在抗TIM3抗体TIM3.18.IgG1.3、同种型对照或不存在抗体的情况下进行的A11oMLR测定中细胞的增殖。

[0109] 图35是如通过结晶学测定的TIM3:TIM3.18 Fab复合物的结构的带状图。Fab片段以浅灰色显示,且TIM3以深灰色显示。

[0110] 图36显示如通过结晶学测定的TIM3:TIM3.18 Fab复合物的结构。Fab片段显示为带状图。TIM3显示为白色表面表示,其中Fab接触残基以深灰色描绘。

[0111] 图37是用于测量通过抗TIM3抗体的潜在内化的测定的图。

[0112] 图38显示抗TIM3抗体13A3(左下图)及其某些变体(D101E-左上图;N60Q-右上图)不触发受体(即TIM3)介导的内化。

[0113] 图39A和39B显示描绘抗TIM3抗体13A3(图39A)和3G4(图39B)的表位的带状图。在带状图下方提供每种抗体的表位的氨基酸序列。不同的模式鉴定对应于特定表位的抗TIM3抗体的特定区域。

[0114] 公开详述

为了本说明书可以更容易理解,首先定义某些术语。另外的定义在整个详述中阐述。

[0115] 应注意,术语“一个/种(a或an)”实体是指该实体的一个/种或多个/种;例如,“核苷酸序列”应理解为代表一个或多个核苷酸序列。因此,术语“一个/种”、“一个/种或多个/种”和“至少一个/种”在本文中可以互换使用。

[0116] 此外,本文使用的“和/或”被视为具有或不具有另一者的两个指定特征或组件中的每一者的具体公开。因此,本文中短语诸如“A和/或B”中使用的术语“和/或”旨在包括“A和B”、“A或B”、“A”(单独)和“B”(单独)。同样地,短语诸如“A、B和/或C”中使用的术语“和/或”旨在涵盖以下方面的每一者:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独);B(单独);和C(单独)。

[0117] 应当理解,无论何处在本文中用语言“包含/包括”描述方面,还提供了以“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的其他类似方面。

[0118] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有与本公开所涉及领域的普通

技术人员通常理解的相同的含义。例如,Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版, 1999, Academic Press; 和Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press为本领域技术人员提供了本公开中使用的许多术语的通用字典。

[0119] 单位、前缀和符号以其Système International de Unites (SI) 接受的形式表示。数值范围包括定义范围的数字。除非另有说明, 核苷酸序列以5'至3'取向从左到右书写。氨基酸序列以从氨基到羧基取向从左到右书写。本文提供的标题不是对本公开的各个方面的限制, 其可作为整体参考说明书而具有。因此, 紧靠在下面定义的术语通过参考整个说明书更完整地定义。

[0120] 术语“约”在本文中用于表示大约、大致、左右或在其区域中。当术语“约”与数值范围结合使用时, 它通过扩大在所列数值之上和之下的边界来修饰该范围。一般而言, 术语“约”可以以向上或向下(高出或低于)例如10%的差异在所述值之上和之下修饰数值。

[0121] 本文所用的术语“含有T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域-3”或“TIM3”是指作为蛋白的T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域 (TIM) 家族的成员的受体。TIM3的主要配体包括磷脂酰丝氨酸 (TIM3-L)。TIM3也称为甲型肝炎病毒细胞受体2 (HAVCR2)、T细胞免疫球蛋白黏蛋白受体3、TIM-3、TIMD3、TIMD-3、肾损伤分子-3、KIM-3和CD366。术语“TIM3”包括由细胞天然表达的TIM3的任何变体或同工型。因此, 本文所述的抗体可以与来自除人以外的物种的TIM3 (例如, 食蟹猴TIM3) 交叉反应。可选地, 抗体可以是人TIM3特异性的, 并且不表现出与其他物种的任何交叉反应性。TIM3或其任何变体和同工型可以从天然表达它们的细胞或组织中分离, 或者使用本领域熟知的技术和/或本文所述的那些技术重组产生。

[0122] 已经鉴定出人TIM3的两种同工型。同工型1 (登录号NP_116171; SEQ ID NO:286) 由301个氨基酸组成并代表规范序列。同工型2 (登录号AAH20843; SEQ ID NO:287) 由142个氨基酸组成, 并且是可溶的。它缺少氨基酸残基143-301, 其编码TIM3的跨膜结构域、细胞质结构域和胞外结构域的一部分。氨基酸残基132-142也不同于上述的规范序列。

[0123] 以下是两种已知的人TIM3同工型的氨基酸序列。

[0124] (A) 人TIM3同工型1 (登录号NP_116171; SEQ ID NO:286; 由具有登录号NM_032782.4的核苷酸序列编码; SEQ ID NO:288; 图20):

```
MFSLPFDVLLLLLLLTSSEVEYRAEVGNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVLRDTERDV
NYWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPAKVTPAPTRQDFTAAFP
MLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFK
WYSHSKEKIQNLISLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIENVYEEPNYYCYVSSRQQPSQPLGCRFAM
P
```

(B) 人TIM3同工型2 (登录号AAH20843; SEQ ID NO:287; 由具有登录号BC020843.1的核苷酸序列编码; SEQ ID NO:289):

```
MFSLPFDVLLLLLLLTSSEVEYRAEVGNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVLRDTERDV
NYWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPGEWTFACHLYE
```

[0125] 同工型1和2的信号序列对应于氨基酸1-21 (下划线)。因此, 成熟同工型1和2分别由氨基酸22-301或22-142组成。成熟人TIM3的胞外结构域由SEQ ID NO:286的氨基酸22-202组成, 并具有以下氨基酸序列:

SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECSNVVLRTERDVNYWTSRYWLNQDFRKGDVSLT
IENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLKLVKPAKVTPAPTRQRDFTAAPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDI。
NLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIG (SEQ ID NO: 290)

[0126] 食蟹猴TIM3蛋白由以下氨基酸序列(包括信号序列)组成:

MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYIAEVGQNAYLPCSYTPAPPGNLVPVCWGKGACPVFDCSNVLRTENRDV
NDRTSGRYWLKGDVSLTIENVTLADSGVYCCRIQIPGIMNDEKHNKLKLVKPAKVTPAPTLQRDLTSF
PRMLTTGEHGPAETQTPGSLPDVNLTIQIFTLTNELRDSGATIRTAIYIAAGISAGLALALIFGALIFKWYSHSKE。
KTQNLISLISLANIPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIIEEDVYEEVEEPNEYCYVSSGQQPSQPLGCRFAMP (SEQ
ID NO: 360)

[0127] 在一个实施方案中,术语“抗体”是指包含通过二硫键相互连接的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的蛋白。每条重链由重链可变区(在本文中缩写为VH)和重链恒定区(在本文中缩写为CH)构成。在某些抗体中,例如天然存在的IgG抗体,重链恒定区由铰链和三个结构域CH1、CH2和CH3构成。在某些抗体中,例如天然存在的IgG抗体,每条轻链由轻链可变区(本文中缩写为VL)和轻链恒定区构成。轻链恒定区由一个结构域(本文中缩写为CL)构成。VH和VL区可进一步细分成超变区(称为互补决定区(CDR)),其散布有更保守的区(称为框架区(FR))。每一VH和VL由三个CDR和四个FR构成,从氨基端向羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。所述抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子(包括免疫系统的各种细胞(例如,效应细胞)和经典补系统的第一组分(C1q))的结合。重链可以具有C-末端赖氨酸或不具有C-末端赖氨酸。除非本文另有说明,否则可变区中的氨基酸使用Kabat编号系统编号,而恒定区中的氨基酸使用EU系统编号。

[0128] 在某些实施方案中,如本文所用的“IgG抗体”例如人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4抗体,具有天然存在的IgG抗体的结构,即其具有与相同亚类的天然存在的IgG抗体相同数量的重链和轻链和二硫键。例如,抗TIM3 IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗体由两条重链(HC)和两条轻链(LC)组成,其中两条重链和轻链通过相同数量和位置的二硫键连接,所述二硫键分别存在于在天然存在的IgG1、IgG2、IgG3和IgG4抗体中(除非已经突变抗体以修饰二硫键)。

[0129] 抗体通常以高亲和力(通过 10^{-5} - 10^{-11} M或更低的解离常数(K_D)来反映)特异性结合其同源抗原。任何大于约 10^{-4} M的 K_D 通常被认为表明非特异性结合。如本文所用,“特异性结合”抗原的抗体是指以高亲和力(其意味着具有 10^{-7} M或更低、 10^{-8} M或更低、 5×10^{-9} M或更低、或 10^{-8} M- 10^{-10} M或更低的 K_D)结合抗原和实质上相同的抗原,但不以高度亲和力结合不相关的抗原的抗体。如果抗原展示出与给定抗原高度的序列同一性,例如,如果其展示出与给定抗原序列至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、或至少99%的序列同一性,则所述抗原与给定抗原是“实质上相同的”。举例来说,在某些实施方案中,特异性结合人TIM3的抗体还可以具有与来自某些灵长类物种(例如食蟹猴TIM3)的TIM3抗原的交叉反应性,但不能与来自其他物种的TIM3抗原或与TIM3以外的抗原交叉反应。

[0130] 免疫球蛋白可以来自通常已知的同种型中的任一种,包括、但不限于IgA、分泌型IgA、IgG和IgM。IgG同种型在某些物种中分为亚类:人中的IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,以及小鼠中的IgG1、IgG2a、IgG2b和IgG3。在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体是IgG1亚型。免疫球蛋白例如IgG1存在于几种同种异型中,它们在至多几个氨基酸中彼此不同。举例来说,“抗体”包括天然存在的抗体和非天然存在的抗体;单克隆和多克隆抗体;嵌合和人源化

抗体；人和非人抗体和完全合成的抗体。

[0131] 如本文使用的，术语抗体的“抗原结合部分”指保留与抗原（例如人TIM3）特异性结合的能力的抗体的一个或多个片段。已显示抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段执行。包含在术语抗体（例如本文所述的抗TIM3抗体）的“抗原结合部分”内的结合片段的实例包括（i）Fab片段（来自木瓜蛋白酶切割的片段）或由 V_L 、 V_H 、LC和CH1结构域组成的类似的单价片段；（ii）F(ab')₂片段（来自胃蛋白酶切割的片段）或包含在铰链区通过二硫键连接的两个Fab片段的类似的二价片段；（iii）由 V_H 和CH1结构域组成的Fd片段；（iv）由抗体单臂的 V_L 和 V_H 结构域组成的Fv片段，（v）dAb片段（Ward等人，（1989）Nature 341:544-546），其由 V_H 结构域组成；（vi）分离的互补决定区（CDR）和（vii）可任选地由合成接头连接的两个或多个分离的CDR的组合。此外，尽管Fv片段的两个结构域 V_L 和 V_H 由不同的基因编码，但它们可以使用重组方法通过合成接头连接，所述合成接头使它们能够作为其中 V_L 和 V_H 区配对以形成单价分子的单个蛋白链形成（称为单链Fv（scFv）；参见例如Bird等人（1988）Science 242:423-426；和Huston等人（1988）Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883）。此种单链抗体也意欲包含在术语抗体的“抗原结合部分”内。这些抗体片段使用本领域技术人员已知的常规技术获得，并且以与完整抗体相同的方式筛选片段的效用。抗原结合部分可通过重组DNA技术、或通过完整的免疫球蛋白的酶或化学切割得到。

[0132] “双特异性抗体”或“双功能抗体”是具有两个不同重/轻链对和两个不同结合位点的人工杂合抗体。双特异性抗体可以通过多种方法产生，所述方法包括杂交瘤的融合或Fab'片段的连接。参见例如Songsivilai&Lachmann,Clin.Exp.Immunol.79:315-321（1990）；Kostelny等人，J.Immunol.148,1547-1553（1992）。

[0133] 如本文所用，术语“单克隆抗体”是指来自实质上同质的抗体群体的抗体，即除了在单克隆抗体的产生过程中可能出现的可能变体（这种变体通常以少量存在）之外，群体中包含的各个抗体实质上相似并且结合相同的表位（例如，抗体展示单一结合特异性和亲和力）。修饰词“单克隆”指示抗体的特征为从实质上均质抗体群体获得的，而不应被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。术语“人单克隆抗体”是指来自实质上同质的抗体群体的抗体，所述实质上同质的抗体展示单一结合特异性并且具有衍生自人种系免疫球蛋白序列的可变和任选恒定区。在一个实施方案中，人单克隆抗体由杂交瘤产生，所述杂交瘤包括融合到永生化细胞的获自转基因非人动物例如转基因小鼠（其具有包含人重链转基因和轻链转基因的基因组）的B细胞。

[0134] 如本文所用的术语“重组人抗体”包括通过重组方式制备、表达、制造或分离的所有人抗体，如（a）从对人免疫球蛋白基因转基因或转染色体的动物（例如小鼠）或由其产生的杂交瘤中分离的抗体，（b）从转化以表达抗体的宿主细胞中，例如从转染瘤中分离的抗体，（c）从重组的组合人抗体库中分离的抗体，和（d）通过涉及人免疫球蛋白基因序列拼接至其它DNA序列的任何其它手段制备、表达、制造或分离的抗体。此类重组人抗体包含可变区和恒定区，其利用由种系基因编码的特定人种系免疫球蛋白序列，但包括例如在抗体成熟过程中发生的随后的重排和突变。如本领域所知（参见，例如Lonberg（2005）Nature Biotech.23（9）:1117-1125），可变区含有抗原结合结构域，其由重排以形成对外源抗原特异性的抗体的多种基因编码。除了重排之外，可以通过多个单个氨基酸改变（称为体细胞突变或超突变）进一步修饰可变区，以增加抗体对外源抗原的亲和力。恒定区将在对抗原的进

一步应答中变化(即同种型转换)。因此,编码对抗原应答的轻链和重链免疫球蛋白多肽的重排的和体细胞突变的核酸分子不能与原始核酸分子具有序列同一性,而是基本上相同或相似(即,至少具有80%同一性)。

[0135] “人”抗体(HuMAb)指具有其中框架区和CDR区域均来源于人种系免疫球蛋白序列的可变区的抗体。此外,如果抗体含有恒定区,则恒定区也来源于人种系免疫球蛋白序列。本文所述的抗TIM3抗体可以包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或者通过体内体细胞突变引入的突变)。然而,如本文所用,术语“人抗体”并不旨在包括这样的抗体,其中来源于另一哺乳动物物种诸如小鼠的种系的CDR序列已经连接至人框架序列上。术语“人”抗体和“完全人”抗体同义使用。

[0136] “人源化”抗体指这样的抗体,所述抗体中一些、大部分或所有非人抗体的CDR结构域外面的氨基酸被来源于人免疫球蛋白的相应氨基酸所替代。在抗体的人源化形式的一个实施方案中,CDR结构域外部的一些、大部分或所有氨基酸已被来自人免疫球蛋白的氨基酸所替代,而一个或多个CDR区内的一些、大部分或所有氨基酸没有改变。氨基酸的小的添加、缺失、插入、取代或修改是容许的,只要它们没有消除抗体结合特定抗原的能力。“人源化”抗体保留与原始抗体类似的抗原特异性。

[0137] “嵌合抗体”指这样的抗体,其中可变区来源于一个物种且恒定区来源于另一物种,诸如其中可变区来源于小鼠抗体且恒定区来源于人抗体的抗体。

[0138] 如本文所用,“同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体类别(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE抗体)。

[0139] “同种异型”是指特定同种型组内的天然存在的变体,所述变体在少数氨基酸中不同(参见,例如,Jefferis等人(2009)mAbs 1:1)。本文所述的抗TIM3抗体可以是任何同种异型。如本文所用,称为“IgG1f”、“IgG1.1f”或“IgG1.3f”同种型的抗体分别是同种异型“f”的IgG1、无效应子IgG1.1和无效应子IgG1.3抗体,即,具有根据如在Kabat中的EU索引的214R、356E和358M,如例如SEQ ID NO:3所示。

[0140] 短语“识别抗原的抗体”和“对抗原特异性的抗体”在本文中与术语“特异性结合抗原的抗体”可互换使用。

[0141] 如本文所用,“分离的抗体”意指基本上不含其他蛋白和细胞材料的抗体。

[0142] 如本文所用,“抑制TIM3-L与TIM3结合”的抗体意指例如在本领域公认的方法(例如本文所述的基于FACS的结合测定)中使用用人TIM3转染的CHO细胞或表达TIM3的活化T细胞的结合测定中抑制TIM3与其配体(例如磷脂酰丝氨酸)结合的抗体,其中 EC_{50} 为约1 μ g/mL或更低,诸如约0.9 μ g/mL或更低、约0.85 μ g/mL或更低、约0.8 μ g/mL或更低、约0.75 μ g/mL或更低、约0.7 μ g/mL或更低、约0.65 μ g/mL或更低、约0.6 μ g/mL或更低、约0.55 μ g/mL或更低、约0.5 μ g/mL或更低、约0.45 μ g/mL或更低、约0.4 μ g/mL或更低、约0.35 μ g/mL或更低、约0.3 μ g/mL或更低、约0.25 μ g/mL或更低、约0.2 μ g/mL或更低、约0.15 μ g/mL或更低、约0.1 μ g/mL或更低或约0.05 μ g/mL或更低。

[0143] “效应子功能”是指抗体Fc区与Fc受体或配体的相互作用,或由此产生的生物化学事件。示例性的“效应子功能”包括C1q结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、Fc受体结合、Fc γ R介导的效应子功能例如ADCC和抗体依赖性细胞介导的吞噬作用(ADCP)、以及细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)的下调。此类效应子功能通常需要Fc区与结合结构域(例如,抗体可

变结构域)组合。

[0144] “Fc受体”或“FcR”是结合免疫球蛋白的Fc区的受体。结合IgG抗体的FcR包含Fc γ R家族的受体,包括这些受体的等位基因变体和可变剪切形式。Fc γ R家族由三个活化性(小鼠中的Fc γ RI、Fc γ RIII和Fc γ RIV;人中的Fc γ RIA、Fc γ RIIA和Fc γ RIIIA)和一个抑制性(Fc γ RIIB)受体组成。人Fc γ R的各种性质是本领域已知的。大部分先天效应子细胞类型共表达一种或多种活化性Fc γ R和抑制性Fc γ RIIB,而天然杀伤(NK)细胞选择性表达一种活化性Fc受体(小鼠中的Fc γ RIII和人中的Fc γ RIIIA)但不表达小鼠和人中的抑制性Fc γ RIIB。人IgG1结合大部分人Fc受体并且认为在活化其结合的Fc受体的类型方面等同于鼠IgG2a。

[0145] “Fc区”(片段可结晶区域)或“Fc结构域”或“Fc”指抗体的重链的C末端区域,其介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括结合位于免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)上的Fc受体或结合经典补体系统的第一组分(C1q)。因此,Fc区包含排除第一恒定区免疫球蛋白结构域(例如CH1或CL)的抗体的恒定区。在IgG、IgA和IgD抗体同种型中,Fc区包含来源于抗体的两条重链的第二(CH2)和第三(CH3)恒定结构域的两个相同的蛋白片段;IgM和IgE Fc区包含各多肽链中的三个重链恒定结构域(CH结构域2-4)。对于IgG,Fc区包含免疫球蛋白结构域CH2和CH3以及CH1和CH2结构域之间的铰链。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界的限定可以改变,如本文所限定,但人IgG重链Fc区定义为从氨基酸残基D221(对于IgG1)、V222(对于IgG2)、L221(对于IgG3)和P224(对于IgG4)至重链的羧基末端的片段(strech),其中编号根据Kabat中的EU索引。人IgG2 Fc区的CH2结构域从氨基酸237延伸至氨基酸340,且CH3结构域位于Fc区的CH2结构域的C末端侧,即,其从IgG的氨基酸341延伸至氨基酸447或446(如果不存在C末端赖氨酸残基)或445(如果不存在C末端甘氨酸和赖氨酸残基)。如本文所用,Fc区可以为天然序列Fc,包括任何同种异型变体,或变体Fc(例如非天然存在的Fc)。Fc也可以孤立地或在含Fc蛋白多肽诸如“包含Fc区的结合蛋白”也称为“Fc融合蛋白”(例如抗体或免疫黏附素)的背景下指这一区域。

[0146] “天然序列Fc区”或“天然序列Fc”包含与自然界中发现的Fc区的氨基酸序列一致的氨基酸序列。天然序列人Fc区包括天然序列人IgG1 Fc区;天然序列人IgG2 Fc区;天然序列人IgG3 Fc区;和天然序列人IgG4 Fc区,以及其天然存在的变体。天然序列Fc包括Fc的各种同种异型(参见例如Jefferis等人(2009)mAbs 1:1)。

[0147] 术语“表位”或“抗原决定簇”指免疫球蛋白或抗体特异性与之结合的抗原(例如TIM3)上的位点,例如,如通过用于鉴定其的具体方法所限定的。表位可以从连续的氨基酸(通常为线性表位)或通过蛋白的三级折叠而并列的不连续氨基酸(通常为构象表位)形成。由连续的氨基酸形成的表位通常(但并非总是如此)在暴露于变性溶剂得以保留,而由三级折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丧失。表位通常包括独特空间构象中的至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸。用于确定给定抗体所结合的何种表位的方法(即表位作图)是本领域众所周知的,并且包括例如免疫印迹和免疫沉淀测定,其中测试来自(例如来自TIM3)的重叠或连续肽与给定抗体(例如抗TIM3抗体)的反应性。确定表位的空间构象的方法包括本领域的技术和本文所述的那些技术,例如,X射线晶体学、抗原突变分析、二维核磁共振和HDX-MS(参见例如Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology,Vol.66,G.E.Morris,编辑(1996))。

[0148] 术语“表位作图”指鉴定抗体-抗原识别的分子决定簇的方法。

[0149] 关于两种或多种抗体的术语“结合相同表位”意指抗体结合氨基酸残基的相同区段,如通过给定方法所测定的。用于确定抗体是否与本文所述抗体结合“TIM3上相同的表位”的技术包括例如表位作图方法,诸如,抗原:抗体复合物的晶体的x射线分析,其提供表位的原子分辨率,和氢/氘交换质谱法(HDX-MS)。其他方法监测抗体与抗原片段或抗原的突变变化形式的结合,其中由于抗原序列内氨基酸残基改变导致的结合丧失通常被认为是表示表位组分。此外,还可以使用用于表位作图的计算组合方法。这些方法依赖于目标抗体亲和力和分离来自组合噬菌体展示肽文库的特异性短肽的能力。预期具有相同的VH和VL或相同的CDR1、2和3序列的抗体结合相同的表位。

[0150] “与另一抗体竞争结合靶标”的抗体指(部分或完全)抑制其他抗体与靶标结合的抗体。两种抗体是否彼此竞争结合靶标,即一种抗体是否抑制另一抗体结合靶标且至何种程度,可以使用已知的竞争实验(例如BIACORE®表面等离子共振(SPR)分析)来测定。在某些实施方案中,抗体与另一抗体竞争结合靶标并抑制另一抗体结合靶标至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。抑制或竞争的水平可以取决于何种抗体是“阻断抗体”(即,首先与靶标孵育的冷抗体(cold antibody))而不同。竞争测定可以如例如以下中所述进行:Ed Harlow和David Lane,Cold Spring Harb Protoc;2006;doi:10.1101/pdb.prot4277或由Ed Harlow和David Lane的“Using Antibodies”Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999的第11章。如果两种抗体以两种方式彼此阻断至少50%(即,无论是否一种或另一种抗体在竞争实验中首先与抗原接触),则两种抗体“交叉竞争”。

[0151] 用于测定两种抗体是否竞争或交叉竞争结合的竞争结合测定包括:竞争结合表达TIM3的T细胞,例如通过流式细胞术,诸如实施例中所述的。其他方法包括:SPR(例如BIACORE®)、固相直接或间接放射免疫测定(RIA)、固相直接或间接酶免疫测定(EIA)、夹心竞争测定(参见Stahli等人,Methods in Enzymology 9:242(1983));固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(参见Kirkland等人,J.Immunol.137:3614(1986));固相直接标记测定、固相直接标记夹心测定(参见Harlow和Lane,Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Press(1988));使用1-125标记的固相直接标记RIA(参见Morel等人,Mol.Immunol.25(1):7(1988));固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA(Cheung等人,Virology 176:546(1990));和直接标记RIA(Moldenhauer等人,Scand.J.Immunol.32:77(1990))。

[0152] 如本文所用,术语“特异性结合”、“选择性结合”、“选择性地结合”和“特异性地结合”指抗体结合预定抗原上的表位。通常,抗体(i)以约小于 10^{-7} M、诸如约小于 10^{-8} M、 10^{-9} M或 10^{-10} M或甚至更低的平衡解离常数(K_D)结合,当通过例如表面等离子共振(SPR)技术在BIACORE®2000仪器中使用预定抗原(例如重组人TIM3)作为分析物和抗体作为配体、或抗体结合抗原阳性细胞的Scatchard分析所测定时,和(ii)以是其对预定抗原或密切相关抗原之外的非特异性抗原(例如BSA、酪蛋白)结合的亲和力的至少两倍的亲和力结合预定抗原。因此,“特异性结合人TIM3”的抗体指以 10^{-7} M或更低,诸如约小于 10^{-8} M、 10^{-9} M或 10^{-10} M或甚至更低的 K_D 结合可溶性或细胞结合的人TIM3的抗体。“与食蟹猴TIM3交叉反应”的抗体指以 10^{-7} M或更低,诸如约小于 10^{-8} M、 10^{-9} M或 10^{-10} M或甚至更低的 K_D 结合食蟹猴TIM3的抗体。在某些实施方案中,不与来自非人物种的TIM3交叉反应的此类抗体在标准结合测定中展示出针对这些蛋白基本上无法检测的结合。

[0153] 如本文所用,术语“ k_{assoc} ”或“ k_a ”意指特定抗体-抗原相互作用的结合速率,而如本文所用的术语“ k_{dis} ”或“ k_d ,”意指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。如本文所用,术语“ K_D ”意指解离常数,其获自 k_d 比 k_a (即, k_d/k_a)的比率并且表示为摩尔浓度(M)。抗体的 K_D 值可以使用本领域充分建立的方法来确定。测定抗体的 K_D 的可用方法包括表面等离子共振、生物传感器系统诸如BIACORE®系统或流式细胞术和Scatchard分析。

[0154] 如本文所用,术语IgG抗体的“高亲和力”指抗体对于靶抗原的 K_D 为 10^{-8} M或更低、 10^{-9} M或更低、或 10^{-10} M或更低。然而,对于其他抗体同种型而言,“高亲和力”结合可以改变。例如,IgM同种型的“高亲和力”结合指抗体具有的 K_D 为 10^{-10} M或更低或 10^{-8} M或更低。

[0155] 在使用抗体或其抗原结合片段的体外或体内测定的上下文中的术语“ EC_{50} ”指诱导为50%最大应答的应答(即,最大应答和基线之间的一半)的抗体或其抗原结合部分的浓度。

[0156] 术语“天然存在的”如本文所用应用于主体来指主体在自然界中可发现的事实。例如,存在于可以从自然界的来源中分离的生物(包括病毒)中且尚未在实验室中由人有目的地改变的多肽或多核苷酸序列是天然存在的。

[0157] “多肽”指包含至少两个连续连接的氨基酸残基的链,其对于链长度没有上限。蛋白中的一个或多个氨基酸残基可以含有修饰诸如但不限于糖基化、磷酸化或二硫键形成。“蛋白”可以包含一种或多种多肽。

[0158] 如本文所用的术语“核酸分子”旨在包括DNA分子和RNA分子。核酸分子可以是单链的或双链的,并且可以是cDNA。

[0159] “保守氨基酸取代”指氨基酸被具有相似侧链的氨基酸残基所取代。具有相似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域定义。这些家族包括具有碱性侧链(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、非极性侧链(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、 β 分支侧链(例如,苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香族侧链(例如,酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体中预测的非必需氨基酸残基被来自相同侧链家族的另一种氨基酸残基替代。鉴定不会消除抗原结合的核苷酸和氨基酸保守取代的方法是本领域众所周知的(参见例如,Brummell等人,Biochem.32:1180-1187(1993);Kobayashi等人Protein Eng.12(10):879-884(1999);和Burks等人Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:412-417(1997))。

[0160] 对于核苷酸,术语“实质上同源性”表示当最优比对和比较时,两个核酸或其指定序列在至少约80%的核苷酸,至少约90%至95%、或至少约98%至99.5%的核苷酸上是相同的,且具有合适的核苷酸插入或缺失。可选地,当区段在选择性杂交条件下将与链的互补体杂交时,存在实质上同源性。

[0161] 对于多肽,术语“实质上同源性”表示当最优比对和比较时,两个多肽或其指定序列在至少约80%的氨基酸,至少约90%至95%、或至少约98%至99.5%的氨基酸上是相同的,且具有合适的氨基酸插入或缺失。

[0162] 两条序列之间的百分比同一性是序列共有的相同位置的数目的函数(即,%同一性=相同位置的#/位置的总#x 100),并考虑缺口的数目和每一缺口的长度,其需要被引入到两条序列的最优比对中。序列比较和两条序列之间的百分比同一性的确定可以使用数学

算法完成,如下文的非限制性实例中所述。

[0163] 两条核苷酸序列之间的百分比同一性可以使用GCG软件包(可获自worldwideweb.gcg.com)中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵和40、50、60、70或80的缺口权重和1、2、3、4、5或6的长度权重来测定。两条核苷酸或氨基酸序列之间的百分比同一性还可以使用E.Meyers和W.Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989))的算法来确定,所述算法已并入ALIGN程序(2.0版)中,其使用PAM120权重残基表,缺口长度罚分为12且缺口罚分为4。此外,两条氨基酸序列之间的百分比同一性可以使用Needleman和Wunsch (J.Mol.Biol. (48): 444-453 (1970))算法测定,所述算法已并入GCG软件包(可获自<http://www.gcg.com>)中的GAP程序,其使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵,和16、14、12、10、8、6或4的缺口权重和1、2、3、4、5或6的长度权重。

[0164] 本文所述的核酸和蛋白序列可以进一步用作“询问序列”以进行针对公共数据库的检索以例如鉴定相关序列。此类序列可以使用以下的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)来进行:Altschul等人(1990)J.Mol.Biol.215:403-10。BLAST核苷酸检索可以用NBLAST程序、评分=100、字长=12来进行以获得与本文所述的核酸分子同源的核苷酸序列。BLAST蛋白检索可以用XBLAST程序、评分=50、字长=3来进行以获得与本文所述的蛋白分子同源的氨基酸序列。为了获得比较目的的有缺口的比对,可以利用Gapped BLAST,如Altschul等人,(1997)Nucleic Acids Res.25(17):3389-3402所述。当利用BLAST和Gapped BLAST程序时,各程序(例如XBLAST和NBLAST)的缺省参数可以使用。参见worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov。

[0165] 核酸可以存在于完整细胞中、细胞裂解物中、或部分纯化或实质上纯化形式中。当通过标准技术包括碱性/SDS处理、CsCl条带、柱层析、琼脂糖凝胶电泳和本领域中公知的其他技术将核酸从其他细胞组分或其他污染物例如其他细胞核酸(例如,染色体的其他部分)或蛋白中纯化时,所述核酸“被分离”或使所述核酸“实质上纯的”。参见F.Ausubel等人,编辑Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)。

[0166] 核酸例如cDNA可以根据标准技术进行突变以提供基因序列。对于编码序列,这些突变可能如期望的影响氨基酸序列。具体而言,考虑与本文所述的天然V、D、J、恒定、转换和其他此类序列实质上同源或衍生于其的DNA序列(其中“衍生”表示序列与另一序列相同或从其改变)。

[0167] 如本文所用,术语“载体”旨在指能够转运与其连接的另一核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”,其指另外的核酸区段可以连入其中的环状双链的DNA环。另一类型的载体是病毒载体,其中额外的DNA区段可以连接入病毒基因组中。某些载体可以在它们导入其中的宿主细胞中自主复制(例如具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)。其他载体(例如,非附加型哺乳动物载体)在引入宿主细胞中时可以整合入宿主细胞的基因组中,并由此随宿主基因组进行复制。此外,某些载体能够指导与其可操作连接的基因的表达。此类载体在本文称为“重组表达载体”(或简单地,“表达载体”)。通常,重组DNA技术中采用的表达载体通常呈质粒形式。在本说明书中,“质粒”和“载体”可以互换使用,因为质粒是最常用的载体形式。然而,还包括其他形式的表达载体,诸如病毒载体(例如,复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒和腺伴随病毒),其起同样的功能。

[0168] 如本文所用,术语“重组宿主细胞”(或简单地“宿主细胞”)旨在指包含天然不存在于细胞中的核酸的细胞,并且可以是重组表达载体已引入其中的细胞。应理解此类术语旨在不仅指具体的主体细胞还指此类细胞的后代。因为由于突变或环境影响,某些修饰可以在后代中发生,此类后代实际上可能与母细胞不相同,但仍包括在如本文所用的术语“宿主细胞”的范围内。

[0169] “免疫应答”如本领域所理解的,且通常指脊椎动物中针对外源物(foreign agent)或异常细胞例如癌细胞的生物应答,所述应答保护生物体免于这些物质和由其引起的疾病。免疫应答由免疫系统的一种或多种细胞(例如,T淋巴细胞、B淋巴细胞、天然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、树突细胞或嗜中性粒细胞)和由任何这些细胞或肝脏产生的可溶性大分子(包括抗体、细胞因子和补体)的作用介导,其导致从脊椎动物机体选择性靶向、结合、损伤、破坏和/或消除入侵病原体、细胞或感染有病原体的组织、癌性或其他异常细胞、或者(在自身免疫或病理性炎症的情况下)正常人细胞或组织。免疫反应包括例如活化或抑制T细胞,例如效应T细胞、Th细胞、CD4+细胞、CD8+细胞或Treg细胞,或活化或抑制免疫系统的任何其他细胞例如NK细胞。

[0170] “免疫调节剂(immunomodulator)”或“免疫调节剂(immunoregulator)”指这样的药剂,例如靶向可以参与调节、调控或修饰免疫应答的信号传导途径的组分的药剂。“调节”、“调控”或“修饰”免疫应答指免疫系统的细胞中的任何改变或此类细胞(例如效应T细胞,诸如Th1细胞)的活性中的任何改变。此类调节包括刺激或抑制免疫系统,其可以显示为各种细胞类型的数目中的增加或降低、这些细胞活性中的增加或降低、或可以在免疫系统内发生的任何其他改变。抑制性和刺激性免疫调节剂两者均已被鉴定,其中的一些可以在肿瘤微环境中具有增强的功能。在一些实施方案中,免疫调节剂靶向T细胞的表面上的分子。“免疫调节靶标(immunomodulatory target)”或“免疫调节靶标(immunoregulatory target)”是这样的分子,例如细胞表面分子,其靶向被物质、试剂、部分、化合物或分子所结合并且其活性受所述物质、试剂、部分、化合物或分子的结合而改变。免疫调节靶标包括例如细胞表面上的受体(“免疫调节受体”)和受体配体(“免疫调节配体”)。

[0171] “免疫疗法”指通过包括诱导、增强、抑制或以其他方式改变免疫系统或免疫应答的方法治疗患有疾病或者处于感染疾病或经受疾病复发的风险中的主体。

[0172] “免疫刺激疗法(Immuno stimulating therapy)”或“免疫刺激疗法(immuno stimulatory therapy)”指导致主体中免疫应答增加(诱导或增强)用于例如治疗癌症的疗法。

[0173] “加强内源性免疫应答”意指增加主体中现有免疫应答的效力或效能。效力或效能中的这种增加可以例如通过克服抑制内源性宿主免疫应答的机制或通过刺激增强内源性宿主免疫应答的机制来实现。

[0174] “T效应”(“T_{eff}”)细胞指具有细胞溶解活性的T细胞(例如CD4+和CD8+ T细胞)以及T辅助(Th)细胞,例如Th1细胞(所述细胞分泌细胞因子并活化和引导其他免疫细胞),但不包括调节性T细胞(Treg细胞)。本文所述的某些抗TIM3抗体活化T_{eff}细胞,例如CD4+和CD8+ T_{eff}细胞和Th1细胞。

[0175] 刺激免疫应答或免疫系统的增加的能力可以产生自T细胞共刺激受体的增强的激动剂活性和/或抑制受体的增强的拮抗剂活性。刺激免疫应答或免疫系统的增加的能力可

以通过测量免疫应答的测定中 EC_{50} 的倍数增加或活性的最大水平来反映,所述测定例如测量细胞因子或趋化因子释放、细胞毒性活性(对靶细胞直接测定或经检测CD107a或颗粒酶间接测定)和增殖中的改变的测定。刺激免疫应答或免疫系统活性的能力可以增强至少10%、30%、50%、75%、2倍、3倍、5倍或更多。

[0176] 如本文所用,术语“连接的”指两个或多个分子的缔合。连接可以是共价的或非共价的。连接也可以是基因的(即重组融合的)。此类连接可以使用各种各样的本领域公认技术诸如化学缀合和重组蛋白产生来实现。

[0177] 如本文所用,“施用”指使用本领域技术人员已知的各种方法和递送系统的任何向主体身体引入包含治疗剂的组合物。用于本文所述的抗TIM3抗体的不同施用途径包括静脉内、腹膜内、肌内、皮下、脊椎或其他肠胃外施用途径,例如,通过注射或输注。如本文所用的短语“肠胃外施用”意指除肠内和局部施用外的施用模式,通常通过注射,并且包括但不限于静脉内、腹膜内、肌内、动脉内、鞘内、淋巴管内、病灶内、囊内、眶内、心内、皮内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注,以及体内电穿孔。可选地,本文所述的抗体可以经非肠胃外途径施用,诸如施用的局部、表皮或粘膜途径,例如,鼻内、经口、阴道、直肠、舌下或局部地。施用还可以例如一次、多次、和/或经一个或多个延长的周期来进行。

[0178] 如本文所用,术语“T细胞介导的应答”指由T细胞介导的应答,包括效应T细胞(例如, $CD8^+$ 细胞)和辅助T细胞(例如, $CD4^+$ 细胞)。T细胞介导的应答包括例如T细胞细胞毒性和增殖。

[0179] 如本文所用,术语“细胞毒性T淋巴细胞(CTL)应答”指由细胞毒性T细胞诱导的免疫应答。CTL应答主要由 $CD8^+$ T细胞介导。

[0180] 如本文所用,术语“抑制”或“阻断”(例如,指抑制/阻断TIM3-L与细胞上的TIM3的结合)可互换使用,并且涵盖部分和完全抑制/阻断。在一些实施方案中,抗TIM3抗体抑制TIM3-L与TIM3的结合至少约50%,例如约60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%,例如如本文进一步所述测定的。在一些实施方案中,抗TIM3抗体抑制TIM3-L与TIM3的结合不大于50%,例如约40%、30%、20%、10%、5%或1%,例如如本文进一步所述测定的。

[0181] 如本文所用,短语“抑制肿瘤生长”包括肿瘤生长任何可测量的降低,例如,抑制肿瘤生长至少约10%,例如,至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约99%或100%。

[0182] 如本文所用,“癌症”指特征在于体内异常细胞不受控的生长的疾病的宽范围的组。不受调节的细胞分裂导致形成恶性肿瘤或细胞,其侵入邻近组织并可以经淋巴系统或血流转移至身体的远端部分。

[0183] 如本文所用,术语“治疗(treat)”、“治疗(treating)”和“治疗(treatment)”指向主体进行的任何类型的干预或处理,或对主体施用活性药剂,目标在于逆转、减轻、改善、抑制、或减缓或防止与疾病相关的症状、并发症、病况或生物化学指标的进展、发生、加重或复发或增强总体存活率。治疗可以针对患有疾病的主体或不患有疾病的主体(例如用于预防)。

[0184] “血液恶性肿瘤”包括淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴恶性肿瘤以及脾脏和淋巴结的癌症。示例性淋巴瘤包括B细胞淋巴瘤(B细胞血液癌)和T细胞淋巴瘤。B细胞淋巴瘤包括

霍奇金淋巴瘤和大部分非霍奇金淋巴瘤。B细胞淋巴瘤的非限制性实例包括弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、粘膜相关淋巴组织淋巴瘤、小细胞淋巴瘤（与慢性淋巴细胞白血病重叠）、套细胞淋巴瘤（MCL）、伯基特淋巴瘤、纵隔大B细胞淋巴瘤、华氏巨球蛋白血症、淋巴结边缘区B细胞淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性积液淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿。T细胞淋巴瘤的非限制性实例包括淋巴结外T细胞淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、间变性大细胞淋巴瘤和血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤。血液恶性肿瘤还包括白血病，例如但不限于继发性白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性髓性白血病、慢性髓性白血病和急性淋巴细胞白血病。血液恶性肿瘤还包括骨髓瘤，例如但不限于多发性骨髓瘤和冒烟型多发性骨髓瘤（smoldering multiple myeloma）。其他血液和/或B细胞或T细胞相关的癌症涵盖在术语血液恶性肿瘤中。

[0185] 术语“有效剂量 (dose)”或“有效剂量 (dosage)”定义为足以实现或至少部分实现期望效果的量。药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”是这样的药物的任何量，当单独或与另一治疗剂组合使用时，所述量促进由疾病症状严重程度降低、无疾病症状的时期的频率和持续时间的增加、或防止由于疾病折磨的损伤或失能所证明的疾病消退。药物的治疗有效量或剂量包括“预防有效量”或“预防有效剂量”，其是药物的任何量，当单独或与另一治疗剂组合施用于处于发生疾病或患有疾病复发的主体时，所述量抑制疾病的发生或复发。治疗剂促进疾病消退或抑制疾病发生或复发的能力可以使用从业医师已知的多种方法来评价，诸如在临床试验过程中在人主体中，在预测在人中的效力的动物模型系统中，或通过测定体外测定中药剂的活性。

[0186] 例如，抗癌剂是促进主体中癌症消退的药物。在一些实施方案中，治疗有效量的药物促进癌症消退至消除癌症的点。“促进癌症消退”意指单独或与抗肿瘤剂组合施用有效量的药物导致在患者中肿瘤生长或尺寸减少、肿瘤坏死、至少一种疾病症状严重性降低、无疾病症状时期的频率和持续时间增加、防止由于疾病折磨所致的伤残或残疾、或以其他方式改善疾病症状。此外，关于治疗的术语“有效的”和“有效性”包括药理有效性和生理安全性。药理有效性指药物促进患者中癌症消退的能力。生理安全性指由于施用药物导致的毒性水平、或其他细胞、器官和/或生物体水平的不利生理效应（不良作用）。

[0187] 对于治疗肿瘤，例如，药物的治疗有效量或剂量相对于未治疗的主体抑制细胞生长或肿瘤生长至少约20%、至少约40%、至少约60%、或至少约80%。在一些实施方案中，药物的治疗有效量或剂量完全抑制细胞生长或肿瘤生长，即，抑制细胞生长或肿瘤生长100%。化合物抑制肿瘤生长的能力可以使用下文所述的测定来评估。可选地，组合物的这一特性可以通过检查化合物抑制细胞生长的能力来评估，此类抑制可以通过技术人员所知的测定体外测量。在本文所述的其他实施方案中，肿瘤消退可以被观察到并且可以持续至少约20天、至少约40天、或至少约60天的时期。

[0188] 术语“患者”包括接受预防性或治疗性治疗的人和其他哺乳动物主体。

[0189] 如本文所用，术语“主体”包括任何人或非人动物。例如，本文所述的方法和组合物可以用于治疗具有癌症的主体。术语“非人动物”包括所有脊椎动物，例如，哺乳动物和非哺乳动物，诸如非人灵长类动物、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。

[0190] 如本文所提及的术语“基于重量的”剂量或给药意指施用于患者的剂量是基于患者的体重来计算的。例如，当具有60kg体重的患者需要3mg/kg的抗TIM3抗体时，可以计算并

使用合适量的抗TIM3抗体(即180mg)用于施用。

[0191] 关于本公开的方法的术语“固定剂量”的使用意指单一组合中的两种或多种抗体(例如,抗TIM3抗体和第二抗体,例如PD-1或PD-L1抗体)以相对彼此特定(固定)的比例存在于组合中。在一些实施方案中,固定剂量基于抗体的重量(例如mg)。在某些实施方案中,固定剂量基于抗体的浓度(例如mg/ml)。在一些实施方案中,两种抗体(例如抗TIM3和抗PD-1或抗PD-L1)的比例为至少约1:1、约1:2、约1:3、约1:4、约1:5、约1:6、约1:7、约1:8、约1:9、约1:10、约1:15、约1:20、约1:30、约1:40、约1:50、约1:60、约1:70、约1:80、约1:90、约1:100、约1:120、约1:140、约1:160、约1:180、约1:200、约200:1、约180:1、约160:1、约140:1、约120:1、约100:1、约90:1、约80:1、约70:1、约60:1、约50:1、约40:1、约30:1、约20:1、约15:1、约10:1、约9:1、约8:1、约7:1、约6:1、约5:1、约4:1、约3:1或约2:1mg第一抗体(例如抗TIM3抗体)比mg第二抗体。例如,抗TIM3抗体与PD-1抗体(例如纳武单抗)的2:1比例可以意指小瓶或注射液可以包含约480mg的抗TIM3抗体和240mg的抗PD-1抗体,或者约2mg/ml的抗TIM3抗体和1mg/ml的抗PD-1抗体。

[0192] 关于本文所述的方法和剂量的术语“统一剂量(flat dose)”意指向患者施用的而与患者的体重或体表面积(BSA)无关的剂量。因此,统一剂量不作为mg/kg剂量提供,而是作为药剂(例如抗TIM3抗体)的绝对量提供。例如,60kg的人和100kg的人将接受相同剂量的抗体(例如480mg的抗TIM3抗体)。

[0193] 如本文所用,术语“ug”和“uM”分别与“μg”和“μM”可互换使用。

[0194] 本文所述的各个方面在以下子部分中进一步详述。

[0195] I. 抗人TIM3抗体

本文描述了抗体例如完全人抗体,其特征在于特定的功能特征或特性。例如,抗体特异性结合人TIM3,且更特异地结合人TIM3的胞外结构域内的特定结构域(例如,功能结构域)。在一个具体实施方案中,抗体特异性结合TIM3上TIM3-L结合的位点。在某些实施方案中,抗体是拮抗剂抗体,即它们抑制(inhibit或suppress)TIM3对细胞(例如T细胞)的T细胞抑制活性。在某些实施方案中,抗TIM3抗体与来自一种或多种非人灵长类动物的TIM3(例如食蟹猴TIM3)交叉反应。在某些实施方案中,抗体特异性结合人TIM3的胞外区和食蟹猴TIM3的胞外区。在一个实施方案中,抗体以高亲和力结合人TIM3。

[0196] 本文所述的抗TIM3抗体表现出以下功能特性的一种或多种:

- (a) 结合可溶性和/或膜结合的人TIM3;
- (b) 结合可溶性和/或膜结合的食蟹猴TIM3;
- (c) 诱导或刺激免疫应答;
- (d) 诱导或刺激T细胞活化,例如Th1细胞活化(如例如通过增强的细胞因子分泌和/或增殖所证明);
- (e) 诱导或刺激T细胞增殖(例如,CD4⁺、CD8⁺ T细胞、Th1细胞或TIL),例如,在共培养测定中,如实施例所述;
- (f) 诱导或刺激通过T细胞(例如Th1细胞或肿瘤浸润淋巴细胞(TIL),例如来自人肾、肺、胰腺或乳腺癌肿瘤的TIL)的IFN- γ 产生,如例如在实施例所述的测定中所测定的;
- (g) 阻断或抑制人TIM3与PtdSer的结合,如例如在实施例所述的测定中所测定

的;

(h) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(i) 结合人TIM3胞外结构域(i) CPVFECG (SEQ ID NO:296); (ii) RIQIPGIMND (SEQ ID NO:298); (iii) CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);或(iv) WTSRYWLNQDFR (SEQ ID NO:297);

(j) 与本文所述的结合TIM3的抗体(例如,13A3、3G4、17C3、17C8、9F6或TIM3.2至TIM3.18中的任一种)竞争或交叉阻断结合人TIM3,如例如在实施例中所测定的测定中所测定的;

(k) 结合人TIM3,但不结合具有以下氨基酸残基中的一个或多个的氨基酸取代的人TIM3:L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120,如SEQ ID NO:286(图20)中所编号;和

(l) 如通过HDX-MS所测定的,结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367)和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368);

(m) 如通过X射线晶体学所测定的,具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120,和任选T70和/或I112;和/或

(n) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3,例如,如实施例中所测定的。

[0197] 在一些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体以高亲和力结合人TIM3,例如, K_D 为 10^{-7} M或更低、 10^{-8} M或更低、 10^{-9} M或更低、 10^{-10} M或更低、 10^{-11} M或更低、 10^{-12} M或更低、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-7} M、 10^{-10} M至 10^{-7} M、或 10^{-9} M至 10^{-7} M。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合可溶性人TIM3,如通过BiacoreTM所测定的(例如,如实施例中所测定的),且 K_D 为 10^{-7} M或更低、 10^{-8} M或更低、 10^{-9} M(1nM)或更低、 10^{-10} M或更低、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-7} M、 10^{-10} M至 10^{-7} M、 10^{-9} M至 10^{-7} M或 10^{-8} M至 10^{-7} M。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合例如活化的人T细胞上结合的(例如,细胞膜结合的)人TIM3,例如如通过流式细胞术和Scatchard图所测定的,且 K_D 为 10^{-7} M或更低、 10^{-8} M或更低、 10^{-9} M(1nM)或更低、 5×10^{-10} M或更低、 10^{-10} M或更低、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-8} M、 10^{-10} M至 10^{-8} M、 10^{-9} M至 10^{-8} M、 10^{-11} M至 10^{-9} M或 10^{-10} M至 10^{-9} M。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合例如活化的人T细胞上结合的(例如,细胞膜结合的)人TIM3,例如如通过流式细胞术所测定的,且 EC_{50} 为10ug/mL或更低、5ug/mL或更低、1ug/mL或更低、0.9ug/mL或更低、0.8ug/mL或更低、0.7ug/mL或更低、0.6ug/mL或更低、0.5ug/mL或更低、0.4ug/mL或更低、0.3ug/mL或更低、0.2ug/mL或更低、0.1ug/mL或更低、0.05ug/mL或更低或0.01ug/mL或更低。在一些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体结合食蟹猴TIM3,且例如 K_D 为 10^{-7} M或更低、 10^{-8} M或更低、 10^{-9} M或更低、 10^{-10} M或更低、 10^{-11} M或更低、 10^{-12} M或更低、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-7} M、 10^{-10} M至 10^{-7} M、或 10^{-9} M至 10^{-7} M。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合可溶性食蟹猴TIM3,如通过BiacoreTM所测定的(例如,如实施例中所测定的),且 K_D 为 10^{-7} M或更低、 10^{-8} M或更低、 10^{-9} M(1nM)或更低、 10^{-10} M或更低、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-7} M、 10^{-10} M至 10^{-7} M、 10^{-9} M至 10^{-7} M或 10^{-8} M至 10^{-7} M。抗TIM3抗体可以结合膜结合的食蟹猴TIM3,且例如 EC_{50} 为100nM或更低、10nM或更低、100nM至0.01nM、100nM至0.1nM、100nM至1nM、或10nM至1nM,例如通过流式细胞

术所测量(例如,如实施例中所所述的)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合例如活化的人T细胞上结合的(例如,细胞膜结合的)食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术和Scatchard图所测定的,且 K_D 为 10^{-7} M或更低、 10^{-8} M或更低、 10^{-9} M(1nM)或更低、 5×10^{-10} M或更低、 10^{-10} M或更低、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-8} M、 10^{-10} M至 10^{-8} M、 10^{-9} M至 10^{-8} M、 10^{-11} M至 10^{-9} M或 10^{-10} M至 10^{-9} M。

[0198] 在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体例如通过活化例如肿瘤中的T细胞来刺激或增强免疫应答。例如,抗TIM3抗体可以活化或共刺激细胞,如例如通过增强的细胞因子(例如,IFN- γ)分泌和/或增强的增殖来证明,这可能是由TIM3介导的T细胞抑制活性的抑制引起的。在某些实施方案中,通过TIM3抗体的T细胞活化或共刺激在CD3刺激的存在下发生。在某些实施方案中,抗TIM3抗体增加IFN- γ 分泌50%、100%(即2倍)、3倍、4倍、5倍或更多,任选最大直至10倍、30倍、100倍,如在原代人T细胞和/或表达人TIM3的T细胞(例如肿瘤浸润淋巴细胞(TIL))上所测量的。

[0199] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体抑制磷脂酰丝氨酸与细胞例如CHO细胞或表达人TIM3的活化的T细胞上的人TIM3的结合,且例如 EC_{50} 为10 μ g/ml或更低、1 μ g/ml或更低、0.01 μ g/ml至10 μ g/ml、0.1 μ g/ml至10 μ g/ml、或0.1 μ g/ml至1 μ g/ml。

[0200] 在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体结合人TIM3的细胞外部分(例如胞外区的Ig样结构域中)中的表位例如构象表位,即SEQ ID NO:286的氨基酸22-202(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合位于人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:286)的氨基酸22-120或成熟人TIM3(SEQ ID NO:290)的氨基酸1-99内的表位(参见实施例)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸58-64组成的区域或结合所述区域内的表位,所述区域对应于成熟人TIM3的氨基酸残基37-43(CPVFECG,SEQ ID NO:296;参见图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸111-120组成的区域或结合所述区域内的表位,所述区域对应于成熟人TIM3的氨基酸残基90-99(RIQIPGIMND,SEQ ID NO:298;参见图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸58-64(CPVFECG,SEQ ID NO:296)组成的区域或结合所述区域内的表位,并且结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸111-120(RIQIPGIMND,SEQ ID NO:298;参见图20)组成的区域或结合所述区域内的表位。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸78-89组成的区域或结合所述区域内的表位,所述区域对应于成熟人TIM3的氨基酸残基57-83(WTSRYWLNDFR,SEQ ID NO:297;参见图20)。

[0201] 在一个实施方案中,抗TIM3抗体结合与13A3的表位实质上相同的表位,即包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、F61、E62、C63、R111和D120中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、F61、E62、C63、D104、R111、Q113和D120中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、F61、E62、C63、R111和D120的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、F61、E62、C63、D104、R111、Q113和D120的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。

[0202] 在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合与3G4的表位实质上相同的表位,即包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G116和M118中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、D104、G116和M118中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G116和M118的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、D104、G116和M118的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。

[0203] 在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合与17C3的表位实质上相同的表位,即包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64和G116中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、D104和G116中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64和G116的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、D104和G116的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。

[0204] 在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合与8B9的表位实质上相同的表位,即包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87和R89中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87和R89中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87和R89(图20)的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87和R89(图20)的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87、R89和D104(图20)的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。

[0205] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体与包含本文所述的CDR或可变区(例如抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4和TIM3.2至TIM3.18的任一者的那些)的抗TIM3抗体竞争结合人TIM3(或抑制其结合人TIM3)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体抑制抗体13A3、3G4、17C3、

17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18的任一者与人TIM3的结合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18的任一者抑制抗TIM3抗体与人TIM3的结合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,抗TIM3抗体抑制13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18的任一者与人TIM3的结合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%,并且13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18的任一者抑制抗TIM3抗体与人TIM3的结合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%(例如,在两个方向上竞争)。

[0206] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体具有以下特征中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15种或全部:

(1) 例如以10nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合可溶性人TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(2) 例如以100nM或更低(例如0.01nM至100nM)的 K_D 结合可溶性食蟹猴TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至1 μ g/mL)的 EC_{50} 结合膜结合的人TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(4) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合膜结合的人TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至20 μ g/mL)的 EC_{50} 结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(6) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(7) 诱导或增强T细胞活化(例如,通过阻断或降低TIM3的抑制作用),如通过(i)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生增加和/或(ii)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)的增殖增强所证实,例如如实施例中所述的;

(8) 在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中刺激T细胞增殖,例如如实施例中所述的;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合,例如如通过PS-hTIM3“串联(in-tandem)”阻断测定所测量的,例如如实施例中所述的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的下列区域之一:(a) CPVFECG(SEQ ID NO:296);(b) RIQIPGIMND(SEQ ID NO:298);(c) CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);和(d) WTSRYWLNDFR(SEQ ID NO:297),例如如实施例中所述的;

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与这样的人TIM3的结合,在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120(如SEQ ID NO:286(图20)中所编号)中的一个或多个被另一种氨基酸取代,例如如实施例中所述的;

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、或TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.18,例如如实施例中所述的;

(14) 如通过HDX-MS所测定的,结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)

和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368), 例如如实施例中所所述的;

(15) 如通过X射线晶体学所测定的, 具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区: P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120, 和任选T70和/或I112, (例如在实施例中所所述的; 根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号); 和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合, 具有降低的与其中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120且任选D104和Q113 (根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号) 中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合; (b) 如通过HDX-MS所测定的, 结合⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368) 和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:373), 如实施例中所所述的; 和/或 (c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3, 例如如实施例中所所述的。

[0207] 因此, 展示出如根据本领域已知的和本文所述的方法所测定这些功能特性 (例如, 生物化学、免疫化学、细胞、生理学或其他生物学活性等) 的一种或多种的抗体将被理解为在特定活性上相对于不存在抗体时观察到的 (例如, 或当存在无关特异性的对照抗体时) 展示出统计学上显著的差异。在一些实施方案中, 在给定测定中测量的参数 (例如T细胞增殖、细胞因子产生) 中抗TIM3抗体诱导的增加使得所测量的参数统计学上显著增加至少10%, 例如至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、100% (即2倍)、3倍、5倍或10倍, 并且在某些实施方案中, 相对于不存在本文所述的抗体的情况下进行的相同测定, 所述抗体可以增加测量的参数, 例如大于92%、94%、95%、97%、98%、99%、100% (即2倍)、3倍、5倍或10倍。相反, 在给定测定中测量的参数 (例如肿瘤体积、与人TIM3的TIM3-L结合) 中抗TIM3抗体诱导的降低使得所测量的参数统计学上显著降低至少10%, 例如至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%, 并且在某些实施方案中, 相对于不存在本文所述的抗体的情况下进行的相同测定, 所述抗体可以降低测量的参数, 例如大于92%、94%、95%、97%、98%或99%。

[0208] 评估抗体对各种物种的TIM3的结合能力的标准测定是本领域已知的, 包括例如ELISA、蛋白质印迹和RIA。在实施例中详细描述了合适的测定。抗体的结合动力学 (例如, 结合亲和力) 也可以通过本领域已知的标准测定来评估, 例如通过Biacore分析。在下文和实施例中进一步详细描述了评估抗体对TIM3的功能特性 (例如, 配体结合、T细胞增殖、细胞因子产生) 的影响的测定。

[0209] 在某些实施方案中, 抗TIM3抗体不是天然抗体或不是天然存在的抗体。例如, 抗TIM3抗体具有与天然存在的抗体的那些不同的翻译后修饰, 例如具有更多、更少或不同类型的翻译后修饰。

[0210] 在某些实施方案中, 抗TIM3抗体不具有激动剂活性, 如例如在CHO-OKT3-CD32:T细胞共培养实验中抗TIM3抗体的交联中所测定的, 其中此类抗体不增强活性超出单独的抗TIM3。在某些实施方案中, 抗TIM3抗体阻断TIM3与其配体的相互作用而不促进激动剂活性。

[0211] 在某些实施方案中, 抗TIM3抗体增强用LPS处理的单核细胞或树突细胞的IL-12产生。

[0212] 在某些实施方案中, 抗TIM3抗体通过组合治疗复活共表达PD-1和TIM3的肿瘤浸润性CD8⁺ T细胞, 因此避免CD8⁺ T细胞的耗尽。

[0213] II. 示例性抗TIM3抗体

本文所述的具体抗TIM3抗体是如本文所述分离和结构表征的抗体,例如单克隆抗体、重组抗体和/或人抗体,所述抗体具有抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18中任一种的CDR和/或可变区序列,以及与其可变区或CDR序列具有至少80%同一性(例如,至少85%、至少90%、至少95%或至少99%同一性)的抗体。13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的VH氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO:34-40。13A3、8B9和9F6的突变形式的VH氨基酸序列显示于SEQ ID NO:112-121和364。13A3、17C3和3G4的VL氨基酸序列显示于SEQ ID NO:60。8B9、8C4和17C8的VL氨基酸序列显示于SEQ ID NO:61。9F6的VL氨基酸序列显示于SEQ ID NO:61、62和63。13A3、8B9和9F6的突变形式的VL氨基酸序列是相应的未突变抗体的VL氨基酸序列。图13中提供了SEQ ID NO的身份概述。

[0214] 因此,本文提供了分离的抗体或其抗原结合部分,其包含重链和轻链可变区,其中重链可变区包含选自SEQ ID NO:34-40、112-121和364的氨基酸序列。

[0215] 还提供了分离的抗体或其抗原结合部分,其包含重链和轻链可变区,其中轻链可变区包含选自SEQ ID NO:60-63的氨基酸序列。

[0216] 本文提供分离的抗人TIM3抗体或其抗原结合部分,其包含:

- (a) 分别包含SEQ ID NO:34和60的重链和轻链可变区序列;
- (b) 分别包含SEQ ID NO:35和61的重链和轻链可变区序列;
- (c) 分别包含SEQ ID NO:36和61的重链和轻链可变区序列;
- (d) 分别包含SEQ ID NO:37和60的重链和轻链可变区序列;
- (e) 分别包含SEQ ID NO:38和61的重链和轻链可变区序列;
- (f) 分别包含SEQ ID NO:38和62的重链和轻链可变区序列;
- (g) 分别包含SEQ ID NO:38和63的重链和轻链可变区序列;
- (h) 分别包含SEQ ID NO:39和60的重链和轻链可变区序列;
- (i) 分别包含SEQ ID NO:40和61的重链和轻链可变区序列;
- (j) 分别包含SEQ ID NO:121和63的重链和轻链可变区序列;
- (k) 分别包含SEQ ID NO:120和61的重链和轻链可变区序列;
- (l) 分别包含SEQ ID NO:112和60的重链和轻链可变区序列;
- (m) 分别包含SEQ ID NO:113和60的重链和轻链可变区序列;
- (n) 分别包含SEQ ID NO:114和60的重链和轻链可变区序列;
- (o) 分别包含SEQ ID NO:115和60的重链和轻链可变区序列;
- (p) 分别包含SEQ ID NO:116和60的重链和轻链可变区序列;
- (q) 分别包含SEQ ID NO:117和60的重链和轻链可变区序列;
- (r) 分别包含SEQ ID NO:118和60的重链和轻链可变区序列;
- (s) 分别包含SEQ ID NO:119和60的重链和轻链可变区序列;或
- (t) 分别包含SEQ ID NO:364和60的重链和轻链可变区序列。

[0217] 抗TIM3抗体可包含13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8或TIM3.2至TIM3.18中任一者的重链和轻链CDR1、CDR2和CDR3或其组合。13A3、8B9、8C4和17C3的VH CDR1的氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO.41-44。9F6、3G4和17C8的VH CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO 45。突变的13A3抗体(即TIM3.10-TIM3.18)的VH CDR1的氨基酸序列与未突变的13A3抗体的

VH CDR1的氨基酸序列相同,即SEQ ID NO:41。突变的8B9抗体(即TIM3.8)的VH CDR1的氨基酸序列与未突变的8B9抗体的VH CDR1的氨基酸序列相同,即SEQ ID NO:42。突变的9F6抗体(即TIM3.7)的VH CDR1的氨基酸序列与未突变的9F6抗体的VH CDR1的氨基酸序列相同,即SEQ ID NO:45。13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的VH CDR2的氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO:46-52。突变的13A3抗体TIM3.10、TIM3.17和TIM3.18的VH CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:122。突变的13A3抗体TIM3.11和TIM3.12的VH CDR2的氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO:123和124。突变的13A3抗体TIM3.13和TIM3.16的VH CDR2的氨基酸序列是未突变的13A3抗体的VH CDR2的氨基酸序列,即SEQ ID NO:46。突变的8B9抗体(即TIM3.8)的VH CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:125。突变的9F6抗体(即TIM3.7)的VH CDR2的氨基酸序列与未突变的9F6抗体的VH CDR2的氨基酸序列相同,即SEQ ID NO:45。13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的VH CDR3的氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO:53-59。

[0218] 突变的13A3抗体(即TIM3.10至TIM3.12)的VH CDR3的氨基酸序列是未突变的13A3抗体的VH CDR3的氨基酸序列,即SEQ ID NO:53。突变的13A3抗体TIM3.13和TIM3.18的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:126。突变的13A3抗体TIM3.15和TIM3.17的VH CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:128。突变的13A3抗体TIM3.14和TIM3.16的VH CDR3的氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO:127和129。突变的8B9抗体(即TIM3.8)的VH CDR3的氨基酸序列是未突变的8B9抗体的VH CDR3的氨基酸序列,即SEQ ID NO:54。突变的9F6抗体(即TIM3.7)的VH CDR3的氨基酸序列与未突变的9F6抗体的VH CDR3的氨基酸序列相同,即SEQ ID NO:57。13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的VH CDR2的氨基酸序列分别显示于SEQ ID NO:53-59。13A3、8B9、8C4、17C3、3G4和17C8的VL CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:64。9F6的VL CDR1的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:64和65。13A3、8B9、8C4、17C3、3G4和17C8的VL CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:66。9F6的VL CDR2的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:66和67。13A3、17C3和3G4的VL CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO 68。8B9、8C4和17C8的VL CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO 69。9F6的VL CDR3的氨基酸序列显示于SEQ ID NO:69、70和71。突变的抗体13A3、8B9和9F6的VL CDR的氨基酸序列是相应的未突变抗体的VL CDR的氨基酸序列。图13提供了本文所述的抗TIM3抗体的CDR的SEQ ID NO列表。

[0219] CDR区使用Kabat系统描绘(Kabat,E.A.,等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH公开号91-3242)。Kabat系统是称为EU索引或EU编号系统的方案的最常用编号系统,其基于测序的第一个人IgG1序列编号(EU抗体;Edelman等人1969)。基于本文公开的Kabat编号方案,抗体编号可以转换成本领域已知的其他系统,例如Chotia、IMGT、Martin(增强的Chotia)或AHO编号方案。

[0220] 鉴于这些抗体中的每一种都与TIM3结合,并且抗原结合特异性主要由CDR1、2和3区提供,VH CDR1、2和3序列以及VL CDR1、2和3序列(例如图13中的那些)可以“混合并匹配”(即,来自不同抗体的CDR可以混合并匹配,尽管每种抗体必须含有VH CDR1、2和3以及VL CDR1、2和3)以产生本文所述的其他抗TIM3结合分子。可以使用上文和实施例中描述的结合测定(例如,ELISA)测试这种“混合并匹配的”抗体的TIM3结合。在一些实施方案中,当VH CDR序列混合并匹配时,来自特定VH序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列被结构上相似的CDR序列替换。同样地,当VL CDR序列混合并匹配时,来自特定VL序列的CDR1、CDR2和/或CDR3序列

被结构上相似的CDR序列替换。对于普通技术人员来说显而易见的是,可以通过用来自本文公开的单克隆抗体13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4、17C8和TIM3.2至TIM3.18中任一者的CDR序列的结构相似的序列取代一个或多个VH和/或VL CDR区序列来产生新的VH和VL序列。

[0221] 本文提供分离的抗人TIM3抗体或其抗原结合部分,其包含:

- (a) 包含选自SEQ ID NO:41-45的氨基酸序列的重链可变区CDR1;
- (b) 包含选自SEQ ID NO:46-52和122-125的氨基酸序列的重链可变区CDR2;
- (c) 包含选自SEQ ID NO:53-59和126-129的氨基酸序列的重链可变区CDR3;
- (d) 包含选自SEQ ID NO:64-65的氨基酸序列的轻链可变区CDR1;
- (e) 包含选自SEQ ID NO:66-67的氨基酸序列的轻链可变区CDR2;和
- (f) 包含选自SEQ ID NO:68-71的氨基酸序列的轻链可变区CDR3;

其中所述抗体特异性结合人TIM3。

[0222] 在一个实施方案中,抗人TIM3抗体包含重链和轻链可变区,其中重链可变区CDR1、CDR2和CDR3区包含:

- (a) SEQ ID NO:41,46,53;
- (b) SEQ ID NO:42,47,54;
- (c) SEQ ID NO:43,48,55;
- (d) SEQ ID NO:44,49,56;
- (e) SEQ ID NO:45,50,57;
- (f) SEQ ID NO:45,51,58;
- (g) SEQ ID NO:45,52,59;
- (h) SEQ ID NO:41,122,53;
- (i) SEQ ID NO:41,123,53;
- (j) SEQ ID NO:41,124,53;
- (k) SEQ ID NO:41,46,126;
- (l) SEQ ID NO:41,46,127;
- (m) SEQ ID NO:41,46,128;
- (n) SEQ ID NO:41,46,129;
- (o) SEQ ID NO:41,122,128;或
- (p) SEQ ID NO:41,122,126;

其中所述抗体特异性结合人TIM3。

[0223] 在一些实施方案中,抗人TIM3抗体包含重链和轻链可变区,其中轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3区包含:

- (a) SEQ ID NO:64,66,68;
- (b) SEQ ID NO:64,66,69;
- (c) SEQ ID NO:65,67,70;或
- (d) SEQ ID NO:64,66,71;

其中所述抗体特异性结合人TIM3。

[0224] 在一个具体实施方案中,抗TIM3抗体包含重链和轻链可变区,其中:

- (a1) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、46、53,和轻链可变区

CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a2) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、122、53,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a3) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、123、53,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a4) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、124、53,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a5) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、46、126,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a6) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、46、127,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a7) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、46、128,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a8) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、46、129,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a9) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、122、128,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(a10) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:41、122、126,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(b1) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:42、47、54,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、69;

(b2) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:42、125、54,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、69;

(c) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:43、48、55,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、69;

(d) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:44、49、56,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;

(e) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:45、50、57,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、69;

(f) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:45、50、57,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、71;

(g1) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:45、50、57,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:65、67、70;

(g2) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:45、50、57,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、71;

(g3) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:45、50、57,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、69;

(h) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:45、51、58,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、68;或(i) 重链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别

包含SEQ ID NO:45、52、59,和轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3分别包含SEQ ID NO:64、66、69; 其中所述抗体特异性结合人TIM3。

[0225] 本文所述的VH结构域或其一个或多个CDR可连接至恒定结构域以形成重链,例如全长重链。类似地,本文所述的VL结构域或其一个或多个CDR可连接至恒定结构域以形成轻链,例如全长轻链。全长重链(C末端赖氨酸(K)除外或C末端甘氨酸和赖氨酸(GK)除外,其可以不存在)和全长轻链组合形成全长抗体。

[0226] 本文所述的VH结构域可以与人IgG例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的恒定结构域(其是天然存在的或修饰的)融合,例如如本文进一步描述的。例如,VH结构域可包含与人IgG(例如IgG1)恒定区诸如以下野生型人IgG1恒定结构域氨基酸序列:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 291)
```

融合的本文所述的任何VH结构域的氨基酸序列,或者包含SEQ ID NO:291的同种异型变体的氨基酸序列并具有以下氨基酸序列:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 277;同种异型具体氨基酸残基
```

以粗体和下划线显示)。

[0227] 抗TIM3抗体的VH结构域可包含与无效应子恒定区融合的本文所述的任何VH结构域的氨基酸序列,例如以下无效应子人IgG1恒定结构域氨基酸序列:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 294;“IgG1.1f,”其包含取代
```

L234A、L235E、G237A、A330S和P331S,所述取代加下划线显示)

或

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 295;“IgG1.3f”,其包含
```

取代L234A、L235E和G237A,所述取代加下划线显示)。

[0228] 例如,IgG1的同种异型变体包含K97R、D239E和/或L241M(上文加下划线和粗体显示),并根据SEQ ID NO:277、294和295中的编号进行编号。在全长重区域内,例如8C4(SEQ ID NO:3),并且根据EU编号,这些氨基酸取代编号为K214R、D356E和L358M。在一些实施方案

中,抗TIM3抗体的恒定区可以进一步包含如SEQ ID NO:277、294和295中编号的氨基酸L117、A118、G120、A213和P214(上文加下划线显示)或根据EU编号的L234、A235、G237、A330和P331处的一个或多个突变或取代。在进一步的实施方案中,抗TIM3抗体的恒定区包含SEQ ID NO:291的氨基酸L117A、A118E、G120A、A213S和P214S或根据EU编号的L234A、L235E、G237A、A330S和P331S处的一个或多个突变或取代。抗TIM3抗体的恒定区还可以包含SEQ ID NO:291的L117A、A118E和G120A或根据EU编号的L234A、L235E和G237A的一个或多个突变或取代。

[0229] 可选地,抗TIM3抗体的VH结构域可包含与人IgG4恒定区融合的本文所述的任何VH结构域的氨基酸序列,所述人IgG4恒定区例如以下人IgG4氨基酸序列或其变体:

```
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS  
LGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQED  
PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPRE  
PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG  
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID NO:292,其包含S228P)。
```

[0230] 本文所述的VL结构域可以与人κ或λ轻链的恒定结构域融合。例如,抗TIM3抗体的VL结构域可包含与以下人IgG1κ轻链氨基酸序列融合的本文所述的任何VL结构域的氨基酸序列:

```
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLS  
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 278)。
```

[0231] 在某些实施方案中,重链恒定区包含在C-末端的赖氨酸或另一种氨基酸,例如其包含以下最后的氨基酸:重链中的LSPGK(SEQ ID NO:279)。在某些实施方案中,重链恒定区在C-末端缺少一个或多个氨基酸,并且具有例如C-末端序列LSPG(SEQ ID NO:280)或LSP(SEQ ID NO:281)。

[0232] 示例性重链和轻链的氨基酸序列对应于SEQ ID NO:1-28、72-111、301-354(对于重链)和SEQ ID NO:29-30和32-33(对于轻链)。

[0233] 本文提供分离的抗人TIM3抗体或其抗原结合部分,其包含:

- (a1) 分别包含SEQ ID NO:301(或302)和29的重链和轻链序列;
- (a2) 分别包含SEQ ID NO:1(或8)和29的重链和轻链序列;
- (a3) 分别包含SEQ ID NO:15(或22)和29的重链和轻链序列;
- (a4) 分别包含SEQ ID NO:303(或304)和29的重链和轻链序列;
- (a5) 分别包含SEQ ID NO:72(或82)和29的重链和轻链序列;
- (a6) 分别包含SEQ ID NO:92(或102)和29的重链和轻链序列;
- (a7) 分别包含SEQ ID NO:305(或306)和29的重链和轻链序列;
- (a8) 分别包含SEQ ID NO:73(或83)和29的重链和轻链序列;
- (a9) 分别包含SEQ ID NO:93(或103)和29的重链和轻链序列;
- (a10) 分别包含SEQ ID NO:307(或308)和29的重链和轻链序列;
- (a11) 分别包含SEQ ID NO:74(或84)和29的重链和轻链序列;
- (a12) 分别包含SEQ ID NO:94(或104)和29的重链和轻链序列;
- (a13) 分别包含SEQ ID NO:309(或310)和29的重链和轻链序列;

- (a14) 分别包含SEQ ID NO:75 (或85) 和29的重链和轻链序列;
- (a15) 分别包含SEQ ID NO:95 (或105) 和29的重链和轻链序列;
- (a16) 分别包含SEQ ID NO:311 (或312) 和29的重链和轻链序列;
- (a17) 分别包含SEQ ID NO:76 (或86) 和29的重链和轻链序列;
- (a18) 分别包含SEQ ID NO:96 (或106) 和29的重链和轻链序列;
- (a19) 分别包含SEQ ID NO:313 (或314) 和29的重链和轻链序列;
- (a20) 分别包含SEQ ID NO:77 (或87) 和29的重链和轻链序列;
- (a21) 分别包含SEQ ID NO:97 (或107) 和29的重链和轻链序列;
- (a22) 分别包含SEQ ID NO:315 (或316) 和29的重链和轻链序列;
- (a23) 分别包含SEQ ID NO:78 (或88) 和29的重链和轻链序列;
- (a24) 分别包含SEQ ID NO:98 (或108) 和29的重链和轻链序列;
- (a25) 分别包含SEQ ID NO:317 (或318) 和29的重链和轻链序列;
- (a26) 分别包含SEQ ID NO:79 (或89) 和29的重链和轻链序列;
- (a27) 分别包含SEQ ID NO:99 (或109) 和29的重链和轻链序列;
- (a28) 分别包含SEQ ID NO:319 (或320) 和29的重链和轻链序列;
- (a29) 分别包含SEQ ID NO:349 (或350) 和29的重链和轻链序列;
- (a30) 分别包含SEQ ID NO:351 (或352) 和29的重链和轻链序列;
- (a31) 分别包含SEQ ID NO:353 (或354) 和29的重链和轻链序列;
- (b1) 分别包含SEQ ID NO:321 (或322) 和30的重链和轻链序列;
- (b2) 分别包含SEQ ID NO:2 (或9) 和30的重链和轻链序列;
- (b3) 分别包含SEQ ID NO:16 (或23) 和30的重链和轻链序列;
- (b4) 分别包含SEQ ID NO:323 (或324) 和30的重链和轻链序列;
- (b5) 分别包含SEQ ID NO:80 (或90) 和30的重链和轻链序列;
- (b6) 分别包含SEQ ID NO:100 (或110) 和30的重链和轻链序列;
- (b7) 分别包含SEQ ID NO:325 (或326) 和30的重链和轻链序列;
- (c1) 分别包含SEQ ID NO:327 (或328) 和30的重链和轻链序列;
- (c2) 分别包含SEQ ID NO:3 (或10) 和30的重链和轻链序列;
- (c3) 分别包含SEQ ID NO:17 (或24) 和30的重链和轻链序列;
- (c4) 分别包含SEQ ID NO:329 (或330) 和30的重链和轻链序列;
- (d1) 分别包含SEQ ID NO:331 (或332) 和29的重链和轻链序列;
- (d2) 分别包含SEQ ID NO:4 (或11) 和29的重链和轻链序列;
- (d3) 分别包含SEQ ID NO:18 (或25) 和29的重链和轻链序列;
- (d4) 分别包含SEQ ID NO:333 (或334) 和29的重链和轻链序列;
- (e1.1) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和32的重链和轻链序列;
- (e1.2) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和33的重链和轻链序列;
- (e1.3) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和31的重链和轻链序列;
- (e2) 分别包含SEQ ID NO:5 (或12) 和33的重链和轻链序列;
- (e3) 分别包含SEQ ID NO:19 (或26) 和33的重链和轻链序列;
- (e4) 分别包含SEQ ID NO:337 (或338) 和33的重链和轻链序列;

(e5) 分别包含SEQ ID NO:81 (或91) 和33的重链和轻链序列;
(e6) 分别包含SEQ ID NO:101 (或111) 和33的重链和轻链序列;
(e7) 分别包含SEQ ID NO:339 (或340) 和33的重链和轻链序列;
(f1) 分别包含SEQ ID NO:341 (或342) 和29的重链和轻链序列;
(f2) 分别包含SEQ ID NO:6 (或13) 和29的重链和轻链序列;
(f3) 分别包含SEQ ID NO:20 (或27) 和29的重链和轻链序列;
(f4) 分别包含SEQ ID NO:343 (或344) 和29的重链和轻链序列;
(g1) 分别包含SEQ ID NO:345 (或346) 和30的重链和轻链序列;
(g2) 分别包含SEQ ID NO:7 (或14) 和30的重链和轻链序列;
(g3) 分别包含SEQ ID NO:21 (或28) 和30的重链和轻链序列;或 (g4) 分别包含SEQ ID NO:347 (或348) 和30的重链和轻链序列;

其中所述抗体特异性结合人TIM3。

[0234] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含本文所示(例如,在前一段中)的重链和轻链序列的组合,其中所述抗体包含两条重链和两条轻链,并且还可包含将两条重链连接在一起的至少一个二硫键。抗体还可以包含将每条轻链与每条重链连接的二硫键。

[0235] 包含与本文所示的任何重链或轻链(或其可变区)例如SEQ ID NO:1-33、72-111和301-354具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、80%、75%或70%同一性的氨基酸序列的重链和轻链可用于形成具有期望的特征(例如本文进一步所述的那些)的抗人TIM3抗体。示例性变体是包含例如在恒定结构域中的同种异体变异和/或在可变区或恒定区中的突变(诸如本文公开的突变)的变体。包含与本文所示的任何重链或轻链(或其可变区)至多1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5、1-4、1-3、1-2或1个氨基酸(通过取代、添加或缺失)不同的氨基酸序列的重链和轻链可用于形成具有期望的特征(例如本文进一步所述的那些)的抗人TIM3抗体。

[0236] 在各种实施方案中,上述抗体展示出以下功能特性的一种或多种、两种或多种、三种或多种、四种或多种、五种或多种、六种或多种、七种或多种、八种或多种、九种或多种、十种或多种、十一种或多种、十二种或多种、十三种或多种、十四种或多种、十五种或多种、或全部:

(1) 例如以10nM或更低(例如0.01nM至10nM)的KD结合可溶性人TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(2) 例如以100nM或更低(例如0.01nM至100nM)的KD结合可溶性食蟹猴TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至1 μ g/mL)的EC₅₀结合膜结合的人TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(4) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的K_D结合膜结合的人TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至20 μ g/mL)的EC₅₀结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(6) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的K_D结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(7) 诱导或增强T细胞活化(例如,通过阻断或降低TIM3的抑制作用),如通过(i)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生增加和/或(ii)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)的增殖增强所证实,例如如实施例中所所述的;

(8) 在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中刺激T细胞增殖,例如如实施例中所所述的;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合,例如如通过PS-hTIM3“串联(in-tandem)”阻断测定所测量的,例如如实施例中所所述的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的下列区域之一:(a) CPVFECG(SEQ ID NO:296);(b) RIQIPGIMND(SEQ ID NO:298);(c) CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);和(d) WTSRYWLNDFR(SEQ ID NO:297),例如如实施例中所所述的;

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与这样的人TIM3的结合,在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120(如SEQ ID NO:286(图20)中所编号)中的一个或多个被另一种氨基酸取代,例如如实施例中所所述的;

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、或TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17和TIM3.18,例如如实施例中所所述的;

(14) 如通过HDX-MS所测定的,结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:368),例如如实施例中所所述的;

(15) 如通过X射线晶体学所测定的,具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120,和任选T70和/或I112,(例如在实施例中所所述的;根据SEQ ID NO:286(图20)编号);和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与其中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120且任选D104和Q113(根据SEQ ID NO:286(图20)编号)中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合;(b) 如通过HDX-MS所测定的,结合⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:368)和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:373),如实施例中所所述的;和/或(c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3,例如如实施例中所所述的。

[0237] 此类抗体包括例如人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0238] 在一个实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体结合构象表位。

[0239] 在一个实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体结合成熟人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的以下区域内的氨基酸残基:

SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTS RYWLNDFR
RKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMND(SEQ ID NO:299),其对应于成熟人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的氨基酸残基1-99或具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸22-120。

[0240] 在一个实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体结合成熟人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的以下区域内的氨基酸残基:CPVFECG(SEQ ID NO:296),其对应于成熟的人TIM3胞

外结构域 (SEQ ID NO:290) 的氨基酸残基37-43。

[0241] 在一个实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体结合成熟人TIM3胞外结构域 (SEQ ID NO:290) 的以下区域内的氨基酸残基:WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO:297),其对应于成熟的人TIM3胞外结构域 (SEQ ID NO:290) 的氨基酸残基57-83。

[0242] 在一个实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体结合成熟人TIM3胞外结构域 (SEQ ID NO:290) 的以下区域内的氨基酸残基:RIQIPGIMND (SEQ ID NO:298),其对应于成熟的人TIM3胞外结构域 (SEQ ID NO:290) 的氨基酸残基90-99。

[0243] 在一个实施方案中,抗TIM3抗体具有如同抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4和TIM3.2至TIM3.18中的一种或多种的与野生型和突变的人TIM3结合的相同模式。在一个实施方案中,抗TIM3抗体结合成熟人TIM3胞外结构域 (SEQ ID NO:290) 的以下区域内的氨基酸残基:CPVFECG (SEQ ID NO:296)、WTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLAD (SEQ ID NO:297) 和/或RIQIPGIMND (SEQ ID NO:298)。

[0244] 在某些实施方案中,如通过HDX-MS所测定的,抗TIM3抗体结合 (1) ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367) 和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368) 或 (2) ⁴⁰YTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:369)、⁶⁶VVLRTDERDVNY⁷⁷ (SEQ ID NO:370)、⁷⁸WTSRYWLNDFRKGDVSL⁹⁵ (SEQ ID NO:371)、¹¹⁰CRIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:372) 和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:373),如例如在实施例中所所述的。在某些实施方案中,如通过HDX-MS所测定的,抗TIM3抗体与hTIM3的氨基酸残基40-62和111-127的区域相互作用,但不与其他区域显著相互作用,例如N-末端至氨基酸残基Y40的区域、位于氨基酸残基E62和R111之间的区域和C-末端至氨基酸残基L127的区域,如例如在实施例中所所述的。

[0245] 在某些实施方案中,相对于结合野生型人TIM3,抗TIM3抗体具有降低的与这样的人TIM3的结合,在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120 (如SEQ ID NO:286 (图20) 中编号) 中的一个或多个被另一种氨基酸取代,并且如通过HDX-MS所测定的,所述抗体结合 (1) ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367) 和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368) 或 (2) ⁴⁰YTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:369)、⁶⁶VVLRTDERDVNY⁷⁷ (SEQ ID NO:370)、⁷⁸WTSRYWLNDFRKGDVSL⁹⁵ (SEQ ID NO:371)、¹¹⁰CRIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:372) 和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:373),如例如在实施例中所所述的。

[0246] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体具有如TIM3.18.IgG1.3或13A3的与野生型和突变的人TIM3结合的相似模式,即所述抗体:

(i) 结合 (1) ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368) 和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:373),并且,例如,但不显著结合 (a) 具有位于氨基酸残基49的N末端的序列的肽;(b) 具有位于氨基酸残基62和111之间的序列的肽 (例如,⁷⁸WTSRYWLNDFRKGDVSL⁹⁵ (SEQ ID NO:371));和 (c) 具有位于氨基酸残基127的C末端的序列的肽,如通过HDX-MS所测定的 (例如,如在实施例中所所述的);

(ii) 无法结合人TIM3,或者具有显著降低的与人TIM3的结合,如例如使用酵母表面展示方法测定的 (例如,如在实施例中所所述的),所述人TIM3具有一个或多个下列氨基酸突变:C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120和任选D104和Q113 (根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号);和/或

(iii) 如通过X射线晶体学所测定的,具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120,和任选T70和/或I112,(例如在实施例中所所述的;根据SEQ ID NO:286(图20)编号)。

[0247] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含重链和轻链,其中重链选自SEQ ID NO:72-111、305-354、325-326和339-340,和/或轻链选自SEQ ID NO:29-33。

[0248] 如本文进一步讨论的,本文所述的抗TIM3抗体的重链恒定区可以是任何同种型,例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4、或其组合和/或其修饰。抗TIM3抗体可具有效应子功能或可具有降低的效应子功能或不具有效应子功能。在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含修饰的重链恒定区,所述修饰的重链恒定区为抗体提供增强的特性。

[0249] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含重链和轻链,其中重链选自SEQ ID NO:72-111和349-352,和/或轻链选自SEQ ID NO:29-33。

[0250] III. 具有特定种系序列的抗体

在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含来自特定种系重链免疫球蛋白基因的重链可变区和/或来自特定种系轻链免疫球蛋白基因的轻链可变区。

[0251] 如本文所证明的,已经制备了对TIM3特异性的包含重链可变区的人抗体,所述重链可变区是人种系VH 4-39基因、VH 4-59基因、VH 1-46基因、VH 3-11、VH 4-17基因、VH 3-10基因、VH 6-19基因、VH 6-13基因、VH JH5b基因和/或VH JH6b基因的产物或者衍生自所述基因。因此,本文提供了包含重链可变区的分离的单克隆抗体或其抗原结合部分,所述重链可变区是选自以下的人VH种系基因的产物或衍生自所述基因:VH 4-39、VH 4-59、VH 1-46、VH 3-11、VH 4-17、VH 3-10、VH 6-19、VH 6-13、VH JH5b、VH JH6b及其任何组合。

[0252] 已经制备了包含轻链可变区的对TIM3特异性的人抗体,所述轻链可变区是人种系VK A27基因、VK JK5基因、VK JK4基因、VK L18基因和/或VK JK1基因的产物或衍生自所述基因。因此,本文提供了包含轻链可变区的分离的单克隆抗体或其抗原结合部分,所述轻链可变区是选自以下的人VK种系基因的产物或衍生自所述基因:VK A27、VK JK5、VK JK4、VK L18、VK JK1及其任何组合。

[0253] 本文所述的抗TIM3抗体包括包含重链可变区且还包含轻链可变区的那些,所述重链可变区是上文列出的人种系VH基因之一的产物或衍生自所述基因之一,所述轻链可变区是上文列出的人种系VK基因之一的产物或衍生自所述基因之一,如附图所示。

[0254] 如本文所用,如果抗体的可变区获自使用人种系免疫球蛋白基因的系统,则人抗体包含是特定种系序列的“产物”或“衍生自”所述特定种系序列的重链和轻链可变区。此类系统包括用目的抗原免疫携带人免疫球蛋白基因的转基因小鼠或用目的抗原筛选噬菌体上展示的人免疫球蛋白基因文库。通过将人抗体的氨基酸序列与人种系免疫球蛋白的氨基酸序列进行比较并选择序列上与人抗体的序列最接近(即最大%同一性)的人种系免疫球蛋白序列,可以如此鉴定出作为人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“衍生自”所述人种系免疫球蛋白序列的人抗体。作为特定人种系免疫球蛋白序列的“产物”或“衍生自”所述特定人种系免疫球蛋白序列的人抗体当相比于种系序列时可以包含氨基酸差异,其由于例如天然存在的体细胞突变或定点突变的有意引入。然而,选择的人抗体通常在氨基酸序列上与由人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少90%的同一性,并且包含当与其他物种

的种系免疫球蛋白氨基酸序列(例如,鼠种系序列)相比时将人抗体鉴定为人的氨基酸残基。在某些情况下,人抗体可以在氨基酸序列上与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列具有至少95%、或甚至至少96%、97%、98%或99%的同一性。通常,衍生自特定人种系序列的人抗体将显示与由人种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列不超过10个氨基酸差异。在某些情况下,人抗体可以展示与由种系免疫球蛋白基因编码的氨基酸序列的不超过5个、或甚至不超过4、3、2或1个氨基酸差异。

[0255] IV. 同源抗体

本文包括具有重链和轻链可变区的抗体,所述重链和轻链可变区包含与本文所述的抗TIM3抗体的氨基酸序列同源的氨基酸序列,并且其中所述抗体保留了本文所述的抗TIM3抗体的期望的功能特性。

[0256] 例如,分离的抗TIM3抗体或其抗原结合部分可包含重链可变区和轻链可变区,其中:

(a) 重链可变区包含与选自SEQ ID NO:34-40、112-121和364的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或包含相对于选自SEQ ID NO:34-40、112-121和364的氨基酸序列的1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4、1-5、1-10、1-15、1-20、1-25或1-50个氨基酸改变(即氨基酸取代、添加或缺失),其中任选地,重链可变区包含本文所述的抗TIM3抗体之一的CDR序列;

(b) 轻链可变区包含与选自SEQ ID NO:60-63的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或包含相对于选自SEQ ID NO:60-63的氨基酸序列的1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4、1-5、1-10、1-15、1-20、1-25或1-50个氨基酸改变(即氨基酸取代、添加或缺失),其中任选地,轻链可变区包含本文所述的抗TIM3抗体之一的CDR序列;

(c) 所述抗体特异性结合人TIM3,和

(d) 抗体展示出以下功能特性中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15种或全部:

(1) 例如以10nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合可溶性人TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(2) 例如以100nM或更低(例如0.01nM至100nM)的 K_D 结合可溶性食蟹猴TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至1 μ g/mL)的 EC_{50} 结合膜结合的人TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(4) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合膜结合的人TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至20 μ g/mL)的 EC_{50} 结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(6) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(7) 诱导或增强T细胞活化(例如,通过阻断或降低TIM3的抑制作用),如通过(i)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生增加和/或(ii)表达TIM3的T细胞(例

如,Th1细胞或TIL)的增殖增强所证实,例如如实施例中所所述的;

(8) 在混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定中刺激T细胞增殖,例如如实施例中所所述的;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合,例如如通过PS-hTIM3“串联(in-tandem)”阻断测定所测量的,例如如实施例中所所述的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域 (SEQ ID NO:290) 的下列区域之一: (a) CPVFECG (SEQ ID NO:296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO:298); (c) CPVFECG和RIQIPGIMND (分别为SEQ ID NO:296和298);和(d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO:297),例如如实施例中所所述的;

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与这样的人TIM3的结合,在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120 (如SEQ ID NO:286 (图20) 中所编号) 中的一个或多个被另一种氨基酸取代,例如如实施例中所所述的;

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、或TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17和TIM3.18,例如如实施例中所所述的;

(14) 如通过HDX-MS所测定的,结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367) 和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368),例如如实施例中所所述的;

(15) 如通过X射线晶体学所测定的,具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120,和任选T70和/或I112,(例如在实施例中所所述的;根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号);和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与其中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120且任选D104和Q113 (根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号) 中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合; (b) 如通过HDX-MS所测定的,结合⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368) 和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:373),如实施例中所所述的;和/或 (c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3,例如如实施例中所所述的。

[0257] 在各种实施方案中,抗体可以表现出如上文(1)至(16)列出的功能特性的一种或多种,两种或多种、三种或多种、四种或多种、五种或多种、六种或多种、七种或多种、八种或多种、九种或多种或全部。抗体可以是例如人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0258] 分离的抗TIM3抗体或其抗原结合部分可包含重链和轻链,其中:

(a) 重链包含与选自SEQ ID NO:1-28、72-111和349-352的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或包含相对于选自SEQ ID NO:1-28、72-111和349-352的氨基酸序列的1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4、1-5、1-10、1-15、1-20、1-25或1-50个氨基酸改变 (即氨基酸取代、添加或缺失),条件是,在某些实施方案中,如果序列是无效应子重链的序列,则不会对IgG1.1恒定区修饰使重链无效应子的突变 (例如,不对R214、A234、E235、A237、S330和S331进行修饰) 且不对IgG1.3恒定区的R214、A234和E235进行修饰,其中任选地,重链可变区包含本文所述的抗TIM3抗体之一的CDR序

列;

(b) 轻链包含与选自SEQ ID NO:29-31的氨基酸序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或包含相对于选自SEQ ID NO:29-31的氨基酸序列的1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4、1-5、1-10、1-15、1-20、1-25或1-50个氨基酸改变(即氨基酸取代、添加或缺失),其中任选地,轻链可变区包含本文所述的抗TIM3抗体之一的CDR序列;

(c) 所述抗体特异性结合人TIM3,和

(d) 抗体展示出以下功能特性中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15种或全部:

(1) 例如以10nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合可溶性人TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(2) 例如以100nM或更低(例如0.01nM至100nM)的 K_D 结合可溶性食蟹猴TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所述的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至1 μ g/mL)的 EC_{50} 结合膜结合的人TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(4) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合膜结合的人TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至20 μ g/mL)的 EC_{50} 结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所述的);

(6) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的 K_D 结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所述的;

(7) 诱导或增强T细胞活化(例如,通过阻断或降低TIM3的抑制作用),如通过(i)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生增加和/或(ii)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)的增殖增强所证实,例如如实施例中所述的;

(8) 在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中刺激T细胞增殖,例如如实施例中所述的;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合,例如如通过PS-hTIM3“串联(in-tandem)”阻断测定所测量的,例如如实施例中所述的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的下列区域之一:(a) CPVFECG(SEQ ID NO:296);(b) RIQIPGIMND(SEQ ID NO:298);(c) CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);和(d) WTSRYWLNDFR(SEQ ID NO:297),例如如实施例中所述的;

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与这样的人TIM3的结合,在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120(如SEQ ID NO:286(图20)中所编号)中的一个或多个被另一种氨基酸取代,例如如实施例中所述的;

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17和TIM3.18,例如如实施例中所述的;

(14) 如通过HDX-MS所测定的, 结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367) 和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368), 例如如实施例中所所述的;

(15) 如通过X射线晶体学所测定的, 具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区: P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120, 和任选T70和/或I112, (例如在实施例中所所述的; 根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号); 和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合, 具有降低的与其中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120且任选D104和Q113 (根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号) 中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合; (b) 如通过HDX-MS所测定的, 结合⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368) 和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:373), 如实施例中所所述的; 和/或 (c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3, 例如如实施例中所所述的。

[0259] 还提供了包含VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2和/或VL CDR3的抗TIM3抗体, 所述CDR与13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18中任一者的相应CDR的不同在于1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个氨基酸改变 (即氨基酸取代、添加或缺失)。在某些实施方案中, 相对于13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18中任一者的相应序列, 抗TIM3抗体包含CDR的1、2、3、4、5或6个的每一个中的1-5个氨基酸改变。在某些实施方案中, 相对于13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18中任一者中的CDR, 抗TIM3抗体在所有CDR中包含总共1-5个氨基酸改变。

[0260] 在某些实施方案中, 抗TIM3抗体包含由13A3的那些组成的VH和VL CDR, 其中一个或多个CDR中的一个或多个氨基酸是本文公开的其他抗TIM3抗体之一的那些。

[0261] 例如, 在某些实施方案中, 抗TIM3抗体包含相对于SRSYYWG (SEQ ID NO:41) 含有一个或多个氨基酸修饰的VH CDR1, 并且可包含例如以下简并序列: X₁X₂X₃X₄YX₅X₆ (SEQ ID NO:282), 其中X₁为任何氨基酸, 例如S或无; X₂为任何氨基酸, 例如R或无; X₃为任何氨基酸, 例如S、R或D; X₄为任何氨基酸, 例如Y或H; X₅为任何氨基酸, 例如W或M; 且X₆为任何氨基酸, 例如G、N、S或H。

[0262] 在某些实施方案中, 抗TIM3抗体包含相对于SIYYSGFTYYNPSLKS (SEQ ID NO:46) 含有一个或多个氨基酸修饰的VH CDR2, 并且可包含例如以下简并序列: X₁IX₂X₃X₄GX₅X₆X₇X₈YX₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄ (SEQ ID NO:283), 其中X₁为任何氨基酸, 例如S、Y、I或F; X₂为任何氨基酸, 例如Y、H、N或S; X₃为任何氨基酸, 例如Y、P、G、T或S; X₄为任何氨基酸, 例如S、T、R或G; X₅为任何氨基酸, 例如F、S或D; X₆为任何氨基酸, 例如S、T或I; X₇为任何氨基酸, 例如I或无; X₈为任何氨基酸, 例如Y、N或I; X₉为任何氨基酸, 例如N、Q、S或A; X₁₀为任何氨基酸, 例如P、S、Q或D; X₁₁为任何氨基酸, 例如S或K; X₁₂为任何氨基酸, 例如L、F或V; X₁₃为任何氨基酸, 例如K或Q; 且X₁₄为任何氨基酸, 例如S或G。

[0263] 在某些实施方案中, 抗TIM3抗体包含相对于GGPYGDYAHWFDP (SEQ ID NO:53) 含有一个或多个氨基酸修饰的VH CDR3, 并且可包含例如以下简并序列: X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀YX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄X₁₅X₁₆X₁₇X₁₈ (SEQ ID NO:284), 其中X₁为任何氨基酸, 例如D、E或无; X₂为任何氨基酸, 例如F、G或无; X₃为任何氨基酸, 例如Y或无; X₄为任何氨基酸, 例如G、S或无; X₅为任何氨基酸, 例如G、T或S; X₆为任何氨基酸, 例如G或S; X₇为任何氨基酸, 例如N、W或无; X₈为任何

氨基酸,例如Y、S、E或无;X₉为任何氨基酸,例如Y或无;X₁₀为任何氨基酸,例如P或Y;X₁₁为任何氨基酸,例如D或无;X₁₂为任何氨基酸,例如Y或无;X₁₃为任何氨基酸,例如A或无;X₁₄为任何氨基酸,例如H或无;X₁₅为任何氨基酸,例如W或无;X₁₆为任何氨基酸,例如F或M;X₁₇为任何氨基酸,例如D或E;且X₁₈为任何氨基酸,例如P、I、V、Y或L。

[0264] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含VH CDR3,其包含选自SEQ ID NO:53-59和126-129的氨基酸序列。

[0265] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含VL CDR1,其包含如SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列。

[0266] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含VL CDR2,其包含如SEQ ID NO:66或SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列。

[0267] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含相对于QQYGSSPIT (SEQ ID NO:68) 含有一个或多个氨基酸修饰的VL CDR3,并且可包含例如以下简并序列:QQX₁X₂SX₃X₄X₅T (SEQ ID NO:285),其中X₁为任何氨基酸,例如F或Y;X₂为任何氨基酸,例如N或G;X₃为任何氨基酸,例如Y或S;X₄为任何氨基酸,例如P或无;X₅为任何氨基酸,例如I、R或L。

[0268] 具有与13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4、8C4或TIM3.2至TIM3.18中任一者的那些(例如分别SEQ ID NO:34-40、112-121或364和SEQ ID NO:60-63的VH和VL区、或分别SEQ ID NO:1-28、72-111或349-352和SEQ ID NO:29-33的重链和轻链、或CDR)具有同源性的序列的抗体可以如下获得:通过诱变(例如,定点或PCR介导的诱变)编码SEQ ID NO:167-173和/或SEQ ID NO:193-196或SEQ ID NO:134-161和/或SEQ ID NO:162-166的核酸分子,然后通过使用本文所述的功能测定测试编码的改变的抗体的保留功能(即上文(1)至(16)中所述的功能)。

[0269] V. 具有保守修饰的抗体

抗TIM3抗体可包含含有CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和含有CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区,其中这些CDR序列中的一个或多个包含基于本文所述的抗TIM3抗体(例如,13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18中任一者)的指定的氨基酸序列或其保守修饰,并且其中所述抗体保留本文所述的TIM3抗体的期望的功能特性。因此,分离的抗TIM3抗体或其抗原结合部分可包含含有CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区和含有CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区,其中:

(a) 重链可变区CDR3序列包含选自SEQ ID NO:53-59和126-129的氨基酸序列的氨基酸序列及其保守修饰,例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代,其中任选地,重链可变区包含本文所述的抗TIM3抗体之一的CDR序列;

(b) 轻链可变区CDR3序列包含选自SEQ ID NO:68-71的氨基酸序列的氨基酸序列及其保守修饰,例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代,其中任选地,轻链可变区包含本文所述的抗TIM3抗体之一的CDR序列;

(c) 所述抗体特异性结合人TIM3,和

(d) 抗体展示出以下特征中的1、2、3、4、5、6、7、8、9种或全部:

(1) 例如以10nM或更低(例如0.01nM至10nM)的K_D结合可溶性人TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所所述的;

(2) 例如以100nM或更低(例如0.01nM至100nM)的K_D结合可溶性食蟹猴TIM3,例如

如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所所述的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至1 μ g/mL)的EC₅₀结合膜结合的人TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所所述的);

(4) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的K_d结合膜结合的人TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所所述的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至20 μ g/mL)的EC₅₀结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所所述的);

(6) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的K_d结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所所述的;

(7) 诱导或增强T细胞活化(例如,通过阻断或降低TIM3的抑制作用),如通过(i)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生增加和/或(ii)表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)的增殖增强所证实,例如如实施例中所所述的;

(8) 在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中刺激T细胞增殖,例如如实施例中所所述的;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合,例如如通过PS-hTIM3“串联(in-tandem)”阻断测定所测量的,例如如实施例中所所述的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的下列区域之一:(a) CPVFECG(SEQ ID NO:296);(b) RIQIPGIMND(SEQ ID NO:298);(c) CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);和(d) WTSRYWLNGDFR(SEQ ID NO:297),例如如实施例中所所述的;

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与这样的人TIM3的结合,在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120(如SEQ ID NO:286(图20)中所编号)中的一个或多个被另一种氨基酸取代,例如如实施例中所所述的;

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、或TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17和TIM3.18,例如如实施例中所所述的;

(14) 如通过HDX-MS所测定的,结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:368),例如如实施例中所所述的;

(15) 如通过X射线晶体学所测定的,具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120,和任选T70和/或I112,(例如在实施例中所所述的;根据SEQ ID NO:286(图20)编号);和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与其中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120和任选D104和Q113(根据SEQ ID NO:286(图20)编号)中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合;(b) 如通过HDX-MS所测定的,结合⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:368)和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:373),如实施例中所所述的;和/或(c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3,例如如实施例中所所述的。

[0270] 在一个实施方案中,重链可变区CDR2序列包含选自SEQ ID NO:46-52和122-125的氨基酸序列的氨基酸序列及其保守修饰,例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代;并且轻链可变区CDR2序列包含选自SEQ ID NO:66-67的氨基酸序列的氨基酸序列及其保守修饰,例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代。

[0271] 在另一个实施方案中,重链可变区CDR1序列包含选自SEQ ID NO:41-45的氨基酸序列的氨基酸序列及其保守修饰,例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代;并且轻链可变区CDR1序列包含选自SEQ ID NO:64-65的氨基酸序列的氨基酸序列及其保守修饰,例如1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4或1-5个保守氨基酸取代。

[0272] 在各种实施方案中,抗体可以表现出如上文(1)至(16)列出的功能特性的一种或多种,两种或多种、三种或多种、四种或多种、五种或多种、六种或多种、七种或多种、八种或多种、九种或多种或全部。此类抗体可以是例如人抗体、人源化抗体或嵌合抗体。

[0273] 保守氨基酸取代还可以在抗体的CDR之外的部分中进行或者除了CDR外还在抗体的其他部分中进行。例如,可以在框架区或Fc区中进行保守氨基酸修饰。可变区或重链或轻链相对于本文提供的抗TIM3抗体序列可包含1、2、3、4、5、1-2、1-3、1-4、1-5、1-10、1-15、1-20、1-25或1-50个保守氨基酸取代。在某些实施方案中,抗TIM3抗体包含保守和非保守氨基酸修饰的组合。

[0274] VI. 抗体结合相同的表位或竞争结合

还提供了与一种或多种本文所述的具体抗TIM3抗体(例如,抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4和/或TIM3.2-TIM3.18)竞争结合人TIM3的抗体。可以基于它们在标准TIM3结合测定中与一种或多种单克隆抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4和/或TIM3.2-TIM3.18竞争性抑制结合人TIM3的能力来鉴定这种竞争抗体。例如,可以使用标准ELISA测定或竞争性ELISA测定,其中将重组人TIM3蛋白固定在板上,添加各种浓度的未标记的第一抗体,洗涤板,添加标记的第二抗体,并且测量标记的量。如果未标记的(第一)抗体(也称为“阻断抗体”)的渐增浓度抑制标记的(第二)抗体的结合,则认为第一抗体抑制第二抗体在板上与靶标的结合,或认为与第二抗体的结合竞争。另外或可选地,Biacore分析可以用于评价抗体竞争的能力。测试抗体抑制本文所述的抗TIM3抗体与TIM3结合的能力表明测试抗体可与所述抗体竞争结合人TIM3。

[0275] 因此,本文提供抗TIM3抗体,其抑制本文所述的抗TIM3抗体结合细胞(例如活化的T细胞)上的TIM3至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,和/或其结合细胞(例如活化的T细胞)上的人TIM3被抑制至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,例如通过ELISA或FACS所测量的,例如通过使用以下段落中描述的测定法。

[0276] 用于确定例如第一抗体是否阻断第二抗体的结合(即“与其竞争”)的示例性竞争实验可以如实施例所述进行,或如下进行:将活化的人T细胞如下制备:使用Ficoll梯度从人全血中分离外周血单核细胞(PBMC),并用10 μ g/mL植物血凝素(PHA-L)(USBiol#P3370-30)和200IU/mL重组IL-2(Peprotech#200-02)活化3天。将活化的T细胞重悬浮于FACS缓冲液(含有5%胎牛血清的PBS)中,并以每样品孔10⁵个细胞接种在96孔板中。将板放置在冰上,随后添加浓度范围为0-50 μ g/mL(自50 μ g/mL的最高浓度开始的三倍滴定)的未缀合的第

一抗体。不相关的IgG可以用作第一抗体的同种型对照并以相同浓度(自50 μ g/mL的最高浓度开始的三倍滴定)添加。与50 μ g/mL未标记的第二抗体预孵育的样品可以包括作为完全阻断(100%抑制)的阳性对照,并且在一级孵育中无抗体的样品可以用作阴性对照(无竞争;0%抑制)。孵育30分钟后,将标记的(例如生物素化的)第二抗体以每孔2 μ g/mL的浓度添加,不洗涤。将样品在冰上再孵育30分钟。通过用FACS缓冲液洗涤细胞将未结合的抗体去除。用检测标记的试剂例如用于检测生物素的PE缀合的链霉抗生物素(Invitrogen,目录号S21388)检测细胞结合的标记的第二抗体。在FACS Calibur Flow Cytometer(BD, San Jose)上获得样品并用Flowjo®软件(Tree Star, Inc, Ashland, OR)分析。结果可以表示为%抑制(即,每个浓度下的标记量除以无阻断抗体时获得的标记量,减去100%)。通常,随后颠倒(in the reverse)进行相同实验,即,第一抗体为第二抗体且第二抗体为第一抗体。

[0277] 在某些实施方案中,抗体至少部分地(例如,至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%)或完全(100%)阻断其他抗体与靶标(例如人TIM3或其部分)的结合,而与当一种或另一种抗体为第一抗体时是否发生抑制无关。当抗体两种方式彼此竞争时(即,在其中首先加入第一抗体的竞争实验中和在其中首先加入第二抗体的竞争实验中),第一抗体和第二抗体“交叉阻断”彼此与靶标的结合。

[0278] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合与本文所述的抗TIM3抗体(例如,13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4和/或TIM3.2-TIM3.18)的表位相同的表位,例如,如通过给定的表位作图技术所确定的。用于确定与本文所述的抗TIM3抗体结合“TIM3上的相同表位”的抗体的技术包括,例如,表位作图方法,例如提供表位的原子分辨率的抗原:抗体复合物晶体的X射线分析。其他方法监测抗体与抗原片段或抗原的突变变化形式的结合,其中由于抗原序列内氨基酸残基修饰导致的结合丧失通常被认为是表示表位组分(参见图20)。此外,还可以使用用于表位作图的计算组合方法。方法还可以依赖于目标抗体从组合噬菌体展示肽文库中亲和分离特异性短肽(以天然三维形式或以变性形式)的能力。随后将肽认为是对应于用于筛选肽文库的抗体的表位定义的引导。对于表位作图,还已经开发了计算算法,其已显示对构象不连续表位进行定位。

[0279] 可以通过使用本领域已知的方法鉴定与本文所述的抗TIM3抗体竞争结合相同表位或结合相同表位的抗体。例如,可以如本文所述用人TIM3免疫小鼠,产生杂交瘤,并筛选所得单克隆抗体与本文所述抗体竞争结合人TIM3的能力。小鼠也可以用含有抗体结合的表位的较小TIM3片段免疫。表位或包含表位的区域也可以通过例如筛选结合跨越TIM3的一系列重叠肽来定位。可选地,Jespersen等人,Biotechnology 12:899,1994的方法可用于指导选择具有与本文所述抗TIM3抗体相同表位且因此具有相似特性的抗体。使用噬菌体展示,将抗TIM3抗体的第一重链与全部的(repertoire)(人)轻链配对以选择TIM3结合抗体,并随后将新的轻链与全部(人)重链配对以选择具有如本文所述的抗TIM3抗体的相同表位或表位区域的(人)TIM3结合抗体。可选地,本文所述的抗体的变体可以通过诱变编码抗体的重链和轻链的cDNA来获得。

[0280] 如由Cunningham和Wells(1989)Science 244:1081-1085所述的丙氨酸扫描诱变、或TIM3中氨基酸残基的一些其它形式的点诱变也可用于获得TIM3抗体结合特征。

[0281] 还可以通过评估抗体与包含TIM3片段(例如非变性或变性片段)的肽的结合来确定特异性抗体的结合特征。含有TIM3(例如人TIM3)序列的一系列重叠肽可以合成并筛选结

合,例如在直接ELISA、竞争ELISA(其中评价肽阻止抗体与结合至微量滴定板的孔的TIM3的结合的能力)中或在芯片上。

[0282] 抗TIM3抗体的结合特征还可以通过基于MS的蛋白足迹法诸如氢/氘交换质谱法(HDX-MS)和蛋白快速光化学氧化法(Fast Photochemical Oxidation of Proteins, FPOP)来获得。HDX-MS可以例如如W02015/18735中和Wei等人(2014) Drug Discovery Today 19:95中所述的来进行,所述方法具体地通过引用并入本文。FPOP可以如例如描述于Hambley和Gross(2005) J. American Soc. Mass Spectrometry 16:2057中所述进行,所述方法具体地通过引用并入本文。

[0283] 抗TIM3抗体的结合特征也可以通过结构方法来获得,诸如X射线晶体结构测定(例如W02005/044853)、分子建模和核磁共振(NMR)光谱学,包括当游离时和当结合在与目标抗体的复合物中时TIM3中不稳定的酰胺氢的H-D交换速率的NMR测定(Zinn-Justin等人(1992) Biochemistry 31,11335-11347; Zinn-Justin等人(1993) Biochemistry 32,6884-6891)。

[0284] 关于X射线晶体学,结晶可以使用本领域任何已知方法来完成(例如Giege等人(1994) Acta Crystallogr. D50:339-350; McPherson(1990) Eur. J. Biochem. 189:1-23),包括微配液结晶法(microbatch)(例如Chayen(1997) Structure 5:1269-1274)、悬滴蒸汽扩散(例如McPherson(1976) J. Biol. Chem. 251:6300-6303)、引晶种(seeding)和透析。期望使用具有至少约1mg/mL或约10mg/mL至约20mg/mL的浓度的蛋白制剂。结晶可以在含有聚乙二醇1000-20,000(PEG;平均分子量范围为约1000至约20,000Da)、约5000至约7000Da、或约6000Da,且浓度范围为约10%至约30%(w/v)的沉淀剂溶液中最实现。还可以期望包含蛋白稳定剂,例如,浓度范围为约0.5%至约20%的甘油。合适的盐诸如氯化钠、氯化锂或柠檬酸钠在沉淀剂溶液中也是期望的,浓度范围为约1mM至约1000mM。将沉淀剂缓冲至约3.0至约5.0的pH。可用于沉淀剂溶液的具体缓冲剂可以变化,并且是本领域熟知的(Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, 第三版, (1994) Springer-Verlag, New York)。可用的缓冲液的实例包括但不限于HEPES、Tris、MES和乙酸盐。晶体可以在宽范围温度下生长,包括2℃、4℃、8℃和26℃。

[0285] 抗体:抗原晶体可以使用众所周知的X射线衍射技术研究并可以使用计算机软件诸如X-PLOR细化(Yale University, 1992, 由Molecular Simulations, Inc. 发布;参见例如Blundell&Johnson(1985) Meth. Enzymol. 114&115, H.W. Wyckoff等人, 编辑, Academic Press; 美国专利申请公开号2004/0014194)和BUSTER(Bricogne(1993) Acta Cryst. D49:37-60; Bricogne(1997) Meth. Enzymol. 276A:361-423, Carter&Sweet, 编辑; Roversi等人(2000) Acta Cryst. D56:1313-1323),其公开内容以其整体通过引用并入本文。

[0286] 抗TIM3抗体可以与具有本文所述氨基酸序列的任何抗TIM3抗体结合相同的表位,如通过表位作图技术测定的,例如本文所述的技术。

[0287] 本文涵盖了与人TIM3和任选食蟹猴TIM3结合的抗体,其具有与本文所述的抗TIM3抗体相似且通过实施例中使用的方法之一确定的结合特征。

[0288] 在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体结合人TIM3的胞外部分中,例如胞外区的Ig样结构域或IgV结构域中(即,SEQ ID NO:286的氨基酸22-130(图20))的表位,例如构象表位。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合位于人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:286)的

氨基酸22-120或成熟人TIM3(SEQ ID NO:290)的氨基酸1-99内的表位(参见实施例)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸58-64组成的区域或结合所述区域内的表位,所述区域对应于成熟人TIM3的氨基酸残基37-43(CPVFECG,SEQ ID NO:296;参见图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸111-120组成的区域或结合所述区域内的表位,所述区域对应于成熟人TIM3的氨基酸残基90-99(RIQIPGIMND,SEQ ID NO:298;参见图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸58-64组成的区域和由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸111-120组成的区域或结合所述区域内的表位。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合由具有SEQ ID NO:286的人TIM3的氨基酸78-89组成的区域或结合所述区域内的表位,所述区域对应于成熟人TIM3的氨基酸残基57-83(WTSRYWLNDFR,SEQ ID NO:297;参见图20)。

[0289] 在一个实施方案中,抗TIM3抗体结合与13A3的表位实质上相同的表位。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、F61、E62、C63、R111和D120中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、F61、E62、C63、D104、R111、Q113和D120中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、F61、E62、C63、R111和D120的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、F61、E62、C63、D104、R111、Q113和D120的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。

[0290] 在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合与3G4的表位实质上相同的表位。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G116和M118中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、D104、G116和M118中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G116和M118的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、D104、G116和M118的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。

[0291] 在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合与17C3的表位实质上相同的表位。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64和G116中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、D104和G116中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:

286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64和G116的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、D104和G116的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。

[0292] 在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合与8B9的表位实质上相同的表位。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87和R89中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87和R89中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在一些实施方案中,抗TIM3抗体结合与8B9的表位实质上相同的表位。在某些实施方案中,抗TIM3抗体结合包含SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87、R89和D104中的一个或多个的表位(或人TIM3的区域)(图20)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87和R89的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87和R89的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。在某些实施方案中,抗TIM3抗体不显著结合或仅以显著降低的结合亲和力结合这样的人TIM3蛋白,在所述人TIM3蛋白中SEQ ID NO:286的氨基酸残基L48、W78、S80、R81、W83、G86、D87、R89和D104(图20)的一个或多个例如以非保守氨基酸取代改变为另一种氨基酸。

[0293] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体与包含本文所述的CDR或可变区(例如抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4和TIM3.2至TIM3.18的任一者的那些)的抗TIM3抗体竞争结合人TIM3(或抑制其结合人TIM3)。在某些实施方案中,抗TIM3抗体抑制抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18的任一者与人TIM3的结合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18的任一者抑制抗TIM3抗体与人TIM3的结合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。在某些实施方案中,抗TIM3抗体抑制13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18的任一者与人TIM3的结合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%,并且13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18的任一者抑制抗TIM3抗体与人TIM3的结合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%(例如,在两个方向上竞争)。

[0294] VII. 工程化且修饰的抗体

还提供工程化且修饰的抗体,其可以使用具有本文公开的VH和/或VL序列中的一种或多种的抗体作为起始材料以工程化修饰的抗体来制备,所述修饰的抗体可以具有自起始抗体的改变的特性。可以通过在一个或两个可变区(即VH和/或VL)内,例如在一个或多个CDR区和/或在一个或多个框架区内修饰一个或多个残基来将抗体工程化。另外地或可选地,可以通过在恒定区内修饰残基例如以改变抗体的效应子功能来将抗体工程化。

[0295] 可以进行的一种类型的可变区工程化是CDR移植。抗体经位于六个重链和轻链互补决定区(CDR)中的氨基酸残基主要地与靶抗原相互作用。为此原因,CDR内的氨基酸序列

在不同抗体之间比CDR之外的序列更加多变。由于CDR序列负责大部分抗体-抗原相互作用,因此可以通过构建表达载体来表达模拟特定天然存在抗体的特性的重组抗体,所述表达载体包括移植至来自具有不同特性的不同抗体的框架序列的特定天然存在抗体的CDR序列(参见例如,Riechmann,L.等人(1998) *Nature* 332:323-327; Jones,P.等人(1986) *Nature* 321:522-525; Queen,C.等人(1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86:10029-10033; Winter的美国专利号5,225,539和Queen等人的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370)。

[0296] 因此,本文所述的另一个实施方案涉及分离的单克隆抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含分别含有选自SEQ ID NO:41-45、SEQ ID NO:46-52、122-125和SEQ ID NO:53-59、126-129的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3序列,所述轻链可变区包含分别含有选自SEQ ID NO:64-65、SEQ ID NO:66-67和SEQ ID NO:68-71的氨基酸序列的CDR1、CDR2和CDR3序列。因此,此类抗体含有单克隆抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18中任一者的VH和VL CDR序列,仍可以含有来自这些抗体的不同框架序列。

[0297] 此类框架序列可以获自公共DNA数据库或包括种系抗体基因序列的公开的参考。例如,人重链和轻链可变区基因的种系DNA序列可以发现于“VBase”人种系序列数据库(可在互联网上www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase获得)以及Kabat,E.A.等人(1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH公开号91-3242;Tomlinson,I.M.,等人(1992) “The Repertoire of Human Germline V_H Sequences Reveals about Fifty Groups of V_H Segments with Different Hypervariable Loops”/.*Mol.Biol.*227:776-798;和Cox,J.P.L.等人(1994) “A Directory of Human Germ-line V_H Segments Reveals a Strong Bias in their Usage”*Eur.J.Immunol.*24:827-836;其各自内容通过引用明确地并入本文。

[0298] 在一些实施方案中,用于本文所述的抗TIM3抗体的框架序列是结构上类似于由本文所述的抗TIM3抗体所用的框架序列的框架序列。VH CDR1、2和3序列以及VL CDR1、2和3序列可以移植至具有与发现于框架序列所来源的种系免疫球蛋白基因中的相同序列的框架区上,或者CDR序列可以移植至相比于种系序列含有一个或多个突变的框架区上。例如,已发现在某些情况下,在框架区内突变残基对于维持或增强抗体的抗原结合能力是有利的(参见例如Queen等人的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370)。

[0299] 本文所述的工程化抗TIM3抗体包括其中对VH和/或VL内的框架残基进行了修饰(例如以改善抗体的性质,例如9F6中氨基酸107处的突变)的那些抗体。通常,做出这样的框架修饰,以降低抗体的免疫原性。例如,一种方法是将一个或多个框架残基“回复突变”成对应的种系序列。更具体地,已经经历体细胞突变的抗体可以含有不同于所述抗体所来源的种系序列的框架残基。此类残基可以通过将抗体框架序列与抗体所来源的种系序列进行比较来鉴定。为了使框架区序列返回至其种系构象,可以将体细胞突变“回复突变”至种系序列,例如通过定点诱变或PCR介导的诱变。此类“回复突变的”抗体也旨在被涵盖。另一类型的框架修饰涉及在框架区内或甚至在一个或多个CDR区内突变一个或多个残基,以去除T细胞表位,由此降低抗体的潜在免疫原性。这种方法也称为“去免疫化(deimmunization)”,且进一步详细描述于Carr等人的美国专利公开号20030153043中。

[0300] 另一种类型的可变区修饰是突变VH和/或VL CDR1、CDR2和/或CDR3区内的氨基酸残基,从而改进目标抗体的一种或多种结合特性(例如,亲和力)。可以进行定点诱变或PCR介导的诱变以引入突变,并且可以在如本文所述并在实施例中提供的体外或体内测定中评估对抗体结合或其他目标功能性质的影响。在一些实施方案中,引入了保守修饰(如上所讨论)。突变可以是氨基酸取代、添加或缺失。此外,通常改变CDR区内不超过一个、两个、三个、四个或五个残基。

[0301] 因此,还提供分离的抗TIM3单克隆抗体或其抗原结合部分,其包含重链可变区,所述重链可变区包含:

(a) VH CDR1区,其包含选自SEQ ID NO:41-45的氨基酸序列或相比于SEQ ID NO:41-45具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;

(b) VH CDR2区,其包含选自SEQ ID NO:46-52和122-125的氨基酸序列或相比于SEQ ID NO:46-52和122-125具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;

(c) VH CDR3区,其包含选自SEQ ID NO:53-59和126-129的氨基酸序列或相比于SEQ ID NO:53-59和126-129具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;

(d) VL CDR1区,其包含选自SEQ ID NO:64-65的氨基酸序列或相比于SEQ ID NO:64-65具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;

(e) VL CDR2区,其包含选自SEQ ID NO:66-67的氨基酸序列或相比于SEQ ID NO:66-67具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列;和

(f) VL CDR3区,其包含选自SEQ ID NO:68-71的氨基酸序列或相比于SEQ ID NO:68-71具有一个、两个、三个、四个或五个氨基酸取代、缺失或添加的氨基酸序列。

[0302] 抗体的CDR中的甲硫氨酸残基可以被氧化,导致潜在的化学降解和随之抗体效能的降低。因此,还提供抗TIM3抗体,其在重链和/或轻链CDR中用不经受氧化降解的氨基酸残基替换一个或多个甲硫氨酸残基。在一个实施方案中,抗体13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4或TIM3.2至TIM3.18中的任一者的CDR中的甲硫氨酸残基被不经受氧化降解的氨基酸残基替换。

[0303] 类似地,脱酰胺位点可以从抗TIM3抗体尤其是CDR中去除。

[0304] 本文所述的抗TIM3可变区可以连接(例如共价连接或融合)至Fc,例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc,其可以是任何同种异型或异同种异型(isoallotype),例如对于IgG1:G1m, G1m1(a), G1m2(x), G1m3(f), G1m17(z);对于IgG2:G2m, G2m23(n);对于IgG3:G3m, G3m21(g1), G3m28(g5), G3m11(b0), G3m5(b1), G3m13(b3), G3m14(b4), G3m10(b5), G3m15(s), G3m16(t), G3m6(c3), G3m24(c5), G3m26(u), G3m27(v)和对于K:Km, Km1, Km2, Km3(参见例如Jefferies等人(2009)mAbs 1:1)。

[0305] 在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3可变区连接至无效应子或大部分无效应子Fc,例如IgG1。

[0306] 通常,本文所述的可变区可以连接至包含一个或多个修饰的Fc,通常以改变抗体的一种或多种功能特性,例如血清半衰期、补体结合、Fc受体结合和/或抗原依赖性细胞毒性。此外,可以将本文所述的抗体化学修饰(例如,可以将一个或多个化学部分连接至抗体

上)或修饰以改变它的糖基化,从而改变所述抗体的一种或多种功能特性。下文更详细地描述这些实施方案中的每个。Fc区中的残基编号是Kabat的EU索引的那种。

[0307] Fc区包括衍生自免疫球蛋白恒定区的结构域,包括恒定区的片段、类似物、变体、突变体或衍生物。合适的免疫球蛋白包括IgG1、IgG2、IgG3、IgG4和其他类别例如IgA、IgD、IgE和IgM。免疫球蛋白的恒定区定义为与免疫球蛋白C-末端区域同源的天然存在的或合成产生的多肽,并且可以分别或组合地包括CH1结构域、铰链、CH2结构域、CH3结构域或CH4结构域。

[0308] Ig分子与多类细胞受体相互作用。例如,IgG分子与对IgG类抗体特异性的三类Fc γ 受体(Fc γ R)即Fc γ RI、Fc γ RII和Fc γ RIII相互作用。已报道,IgG与Fc γ R受体结合的重要序列位于CH2和CH3结构域。抗体的血清半衰期受该抗体结合Fc受体(FcR)的能力的影响。

[0309] 在某些实施方案中,Fc区是变体Fc区,例如相对于亲本Fc序列(例如,未改变的Fc多肽,其随后改变以产生变体)已经改变(例如通过氨基酸取代、缺失和/或插入)的Fc序列,以提供期望的结构特征和/或生物活性。

[0310] 通常,恒定区或其部分的变体,例如CH1、CL、铰链、CH2或CH3结构域可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个突变,和/或至多10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个突变、或1-10或1-5个突变,或包含与相应的野生型区域或结构域(分别为CH1、CL、铰链、CH2或CH3结构域)的具有至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,条件是包含特定变体的重链恒定区保留必要的生物活性。

[0311] 例如,可以在Fc区中进行改变以产生Fc变体,所述变体相对于亲本Fc(a)具有增加或降低的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC),(b)增加或降低的补体介导的细胞毒性(CDC),(c)具有增加或降低的对C1q的亲合力和/或(d)具有增加或降低的对Fc受体的亲和力。此类Fc区变体将通常包含Fc区中的至少一个氨基酸改变。认为组合氨基酸改变是特别期望的。例如,变体Fc区可以在其中(例如本文鉴定的特定Fc区位置)包括两个、三个、四个、五个等取代。

[0312] 变体Fc区还可以包含序列改变,其中涉及二硫键形成的氨基酸被除去或被其他氨基酸替代。这种去除可以避免与用于产生本文所述的抗TIM3抗体的宿主细胞中存在的其他含半胱氨酸的蛋白反应。即使当去除半胱氨酸残基时,单链Fc结构域仍然可以形成非共价保持在一起的二聚体Fc结构域。在其他实施方案中,可改变Fc区以使其与所选宿主细胞更相容。例如,可以去除典型天然Fc区的N末端附近的PA序列,所述序列可以被大肠杆菌中的消化酶(例如脯氨酸亚氨基肽酶)识别。在其他实施方案中,可以去除Fc结构域内的一个或多个糖基化位点。通常糖基化的残基(例如,天冬酰胺)可以赋予细胞溶解反应。这些残基可以被缺失或被未糖基化的残基(例如丙氨酸)取代。在其他实施方案中,可以从Fc区除去参与与补体(例如C1q结合位点)相互作用的位点。例如,可以缺失或取代IgG1的EKK序列。在某些实施方案中,可以除去影响与Fc受体结合的位点,优选除挽救受体(salvage receptor)结合位点之外的位点。在其他实施方案中,可以改变Fc区以去除ADCC位点。ADCC位点是本领域已知的;例如,参见Molec.Immunol.29(5):633-9(1992),关于IgG1中的ADCC位点。变体Fc结构域的具体实例公开于例如WO 97/34631和WO 96/32478。

[0313] 在一个实施方案中,改变Fc的铰链区,从而改变(例如,增加或减少)在铰链区中的半胱氨酸残基的数目。该方法进一步描述于由Bodmer等人的美国专利号5,677,425中。改变

在Fc的铰链区中的半胱氨酸残基的数目,以例如促进轻链和重链的装配,或增加或降低抗体的稳定性。在一个实施方案中,突变抗体的Fc铰链区,以降低所述抗体的生物半衰期。更具体地,将一个或多个氨基酸突变导入Fc-铰链片段的CH2-CH3结构域界面(interface)区中,使得所述抗体具有与天然Fc-铰链结构域SpA结合相比受损的葡萄球菌蛋白A (SpA) 结合。该方法进一步详细描述于由Ward等人的美国专利号6,165,745中。

[0314] 在其它实施方案中,通过用不同的氨基酸残基替代至少一个氨基酸残基来改变Fc区,以改变所述抗体的效应子功能。例如,可以用不同的氨基酸残基替代选自氨基酸残基234、235、236、237、297、318、320、322、330和/或331的一个或多个氨基酸,使得所述抗体具有改变的对效应子配体的亲和力,但是保留亲本抗体的抗原结合能力。亲和力对于其改变的效应子配体可以是例如Fc受体或补体的C1组分。在Winter等人美国专利号5,624,821和5,648,260中进一步详细描述了该方法。

[0315] 在另一个实例中,选自氨基酸残基329、331和322的一个或多个氨基酸可以用不同的氨基酸残基替换,使得抗体具有改变的C1q结合和/或减少或消除的补体依赖性细胞毒性(CDC)。这种方法在Idusogie等人的美国专利6,194,551中进一步详细地描述。

[0316] 在另一个实例中,改变在氨基酸位置231和239内的一个或多个氨基酸残基,从而改变抗体的固定补体的能力。该方法在Bodmer等人的PCT公开W0 94/29351中进一步描述。

[0317] 在又另一个实例中,可以通过改变以下位置处的一个或多个氨基酸来改变Fc区以降低抗体依赖性细胞毒性(ADCC)和/或降低对Fc γ 受体的亲和力:234、235、236、238、239、240、241、243、244、245、247、248、249、252、254、255、256、258、262、263、264、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、299、301、303、305、307、309、312、313、315、320、322、324、325、326、327、329、330、331、332、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、433、434、435、436、437、438或439。示例性取代包括236A、239D、239E、268D、267E、268E、268F、324T、332D和332E。示例性变体包括239D/332E、236A/332E、236A/239D/332E、268F/324T、267E/268F、267E/324T和267E/268F/324T。用于增强Fc γ R和补体相互作用的其他改变包括但不限于取代298A、333A、334A、326A、2471、339D、339Q、280H、290S、298D、298V、243L、292P、300L、396L、3051和396L。这些和其他改变在Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20: 685-691中进行了综述。

[0318] 增加与Fc γ 受体结合的Fc改变包括在Fc区的以下氨基酸位置的任何一个或多个处的氨基酸改变:238、239、248、249、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、279、280、283、285、298、289、290、292、293、294、295、296、298、301、303、305、307、312、315、324、327、329、330、335、337、338、340、360、373、376、379、382、388、389、398、414、416、419、430、434、435、437、438或439,其中Fc区中残基的编号如在abat中(W000/42072)的EU索引的编号。

[0319] 可以对Fc进行的其他Fc改变是用于减少或消除与Fc γ R和/或补体蛋白的结合从而减少或消除Fc介导的效应子功能(例如ADCC、ADCP和CDC)的那些。示例性改变包括但不限于位置234、235、236、237、267、269、325、328、330和/或331(例如330和331)处的取代、插入和缺失,其中编号是根据EU索引。示例性取代包括但不限于234A、235E、236R、237A、267R、269R、325L、328R、330S和331S(例如330S和331S),其中编号是根据EU索引。Fc变体可包含

236R/328R。用于减少Fc γ R和补体相互作用的其他改变包括取代297A、234A、235A、237A、318A、228P、236E、268Q、309L、330S、331S、220S、226S、229S、238S、233P和234V,以及通过突变或酶促手段或通过在不将蛋白糖基化的生物诸如细菌中产生来去除297位的糖基化。这些和其他改变在Strohl,2009,Current Opinion in Biotechnology 20:685-691中进行了综述。

[0320] 任选地,Fc区可以在本领域技术人员已知的另外和/或替代位置处包含非天然存在的氨基酸残基(参见,例如,美国专利号5,624,821;6,277,375;6,737,056;6,194,551;7,317,091;8,101,720;PCX专利公开WO 00/42072;WO 01/58957;WO 02/06919;WO 04/016750;WO 04/029207;WO 04/035752;WO 04/074455;WO 04/099249;WO 04/063351;WO 05/070963;WO 05/040217,WO 05/092925和WO 06/0201 14)。

[0321] 还可以使用增强对抑制性受体Fc γ RIIb的亲力的Fc变体。此类变体可以提供具有关于Fc γ RIIb细胞包括例如B细胞和单核细胞的免疫调节活性的Fc融合蛋白。在一个实施方案中,Fc变体提供相对于一种或多种活化性受体的对于Fc γ RIIb的选择性增强的亲和力。改变与Fc γ RIIb结合的改变包括在选自根据EU索引的位置234、235、236、237、239、266、267、268、325、326、327、328、330、331和332处的一个或多个改变。增强Fc γ RIIb亲和力的示例性取代包括但不限于234A、234D、234E、234F、234W、235D、235E、235F、235R、235Y、236D、236N、237A、237D、237N、239D、239E、266M、267D、267E、268D、268E、327D、327E、328F、328W、328Y、330S、331S和332E。示例性取代包括235Y、236D、239D、266M、267E、268D、268E、328F、328W和328Y。增强结合Fc γ RIIb的其他Fc变体包括235Y/267E、236D/267E、239D/268D、239D/267E、267E/268D、267E/268E和267E/328F。

[0322] Fc区对其配体的亲和力和结合特性可以通过本领域中已知的多种体外测定方法(基于生物化学或免疫学的方法)来测定,包括但不限于:平衡法(例如,酶联免疫吸附测定(ELISA)或放射性免疫测定(RIA))、或动力学(例如BIACORE分析),和其他方法诸如间接结合测定、竞争性抑制测定、荧光共振能量转移(FRET)、凝胶电泳和层析(例如凝胶过滤)。这些和其他方法可以利用所检测的组分中的一种或多种上的标记和/或采用多种检测方法,包括但不限于发色、荧光、发光或同位素标记。结合亲和力和动力学的详述可见于Paul, W.E.,编辑,Fundamental immunology,第4版,Lippincott-Raven,Philadelphia(1999),其关注于抗体-免疫原相互作用。

[0323] 在某些实施方案中,修饰抗体以增加其生物半衰期。多种方法是可以的。例如,这可以通过增加Fc区对FcRn的结合亲和力来完成,例如,可以突变以下残基中的一个或多个:252、254、256、433、435、436,如美国专利号6,277,375中所述。具体的示例性取代包括以下一种或多种:T252L、T254S和/或T256F。可选地,为了增加生物半衰期,可以在CH1或CL区内改变抗体以包含获自IgG的Fc区的CH2结构域的两个环的挽救受体(salvage receptor)结合表位,如在Presta等人的美国专利号5,869,046和6,121,022中所述。其他增加对FcRn结合和/或改进药代动力学特性的示例性变体包括在位置259、308、428和434处的取代,包括例如259I、308F、428L、428M、434S、434I 1.434F、434Y和434X1。增加Fc与FcRn结合的其他变体包括:250E、250Q、428L、428F、250Q/428L(Hinton等人2004,J.Biol.Chem.279(8):6213-6216,Hinton等人2006Journal of Immunology176:346-356)、256A、272A、286A、305A、307A、307Q、311A、312A、376A、378Q、380A、382A、434A(Shields等人,Journal of

Biological Chemistry, 2001, 276 (9) : 6591-6604)、252F、252T、252Y、252W、254T、256S、256R、256Q、256E、256D、256T、309P、311S、433R、433S、433I、433P、433Q、434H、434F、434Y、252Y/254T/256E、433K/434F/436H、308T/309P/311S (Dall'Acqua等人Journal of Immunology, 2002, 169: 5171-5180, Dall'Acqua等人, 2006, Journal of Biological Chemistry 281: 23514-23524)。用于调节Fc γ Rn结合的其他改变描述于Yeung等人, 2010, J Immunol, 182: 7663-7671。

[0324] 在某些实施方案中, 可以使用具有特定生物学特征的杂种IgG同种型。例如, 可以通过用来自IgG3的其中两种同种型不同的位置处的氨基酸取代IgG1的CH2和/或CH3区域中的位置来构建IgG1/IgG3杂种变体。因此, 可以构建包含一个或多个取代例如274Q、276K、300F、339T、356E、358M、384S、392N、397M、422I、435R和436F的杂种变体IgG抗体。在本文所述的其他实施方案中, 可以通过用来自IgG1的其中两种同种型不同的位置处的氨基酸取代IgG2的CH2和/或CH3区域中的位置来构建IgG1/IgG2杂种变体。因此, 可以构建杂种变体IgG抗体, 其包含一个或多个取代, 例如一个或多个以下氨基酸取代: 233E、234L、235L、-236G (指在236位插入甘氨酸) 和327A。

[0325] 此外, 已经对人IgG1上Fc γ RI、Fc γ RII、Fc γ RIII和Fc γ Rn的结合位点作图, 并且已经描述了具有改进的结合的变体 (参见Shields, R.L. 等人 (2001) J. Biol. Chem. 276: 6591-6604)。显示位置256、290、298、333、334和339处的特定突变改进了与Fc γ RIII的结合。此外, 以下组合突变体显示出改进Fc γ RIII结合: T256A/S298A、S298A/E333A、S298A/K224A和S298A/E333A/K334A, 已显示其表现出增强的Fc γ RIIIa结合和ADCC活性 (Shields等人, 2001)。已经鉴定了与Fc γ RIIIa具有强烈增强的结合的其他IgG1变体, 包括具有S239D/I332E和S239D/I332E/A330L突变的变体, 其显示对Fc γ RIIIa的亲力的最大增加、Fc γ RIIb结合的降低和食蟹猴中的强细胞毒性活性 (Lazar等人, 2006)。将三突变引入抗体如阿仑单抗 (CD52特异性)、曲妥珠单抗 (HER2/neu特异性)、利妥昔单抗 (CD20特异性) 和西妥昔单抗 (EGFR特异性) 转化为在体外极大增强的ADCC活性, 并且S239D/I332E变体显示出猴中增强的耗尽B细胞的能力 (Lazar等人, 2006)。此外, 已鉴定含有L235V、F243L、R292P、Y300L和P396L突变的IgG1突变体, 其表现出与Fc γ RIIIa的增强的结合并且伴随在B细胞恶性肿瘤和乳腺癌模型中在表达人Fc γ RIIIa的转基因小鼠中的ADCC活性增强 (Stavenhagen等人, 2007; Nordstrom等人, 2011)。可以使用的其他Fc突变体包括: S298A/E333A/L334A、S239D/I332E、S239D/I332E/A330L、L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L和M428L/N434S。

[0326] 在某些实施方案中, 选择具有降低的与Fc γ R结合的Fc。具有降低的Fc γ R结合的示例性Fc例如IgG1 Fc包含以下三种氨基酸取代: L234A、L235E和G237A。

[0327] 在某些实施方案中, 选择具有降低的补体结合的Fc。具有降低的补体结合的示例性Fc例如IgG1 Fc具有以下两种氨基酸取代: A330S和P331S。

[0328] 在某些实施方案中, 选择基本上不具有效应子功能的Fc, 即其具有降低的与Fc γ R的结合和降低的补体结合。无效效应子的示例性Fc例如IgG1 Fc包含以下五种突变: L234A、L235E、G237A、A330S和P331S。

[0329] 当使用IgG4恒定结构域时, 它可以包括取代S228P, 其模拟IgG1中的铰链序列, 从而稳定IgG4分子。

[0330] 在仍另一个实施方案中, 修饰抗体的糖基化。例如, 可以制备无糖基化抗体 (即抗

体缺乏糖基化)。糖基化可以改变以例如增加抗体对于抗原的亲合力。此类碳水化合物修饰可以通过例如改变在抗体序列内的一个或多个糖基化位点来完成。例如,可以进行一个或多个氨基酸取代,其导致一个或多个可变区框架糖基化位点的消除,从而消除在该位点上的糖基化。这种糖基化可以增加抗体对抗原的亲合力。在Co等人美国专利号5,714,350和6,350,861中进一步详细描述了该方法。

[0331] 可以通过将N297残基突变为另一个残基(例如N297A)和/或通过突变相邻氨基酸(例如298)从而减少N297上的糖基化来防止恒定区N297上的糖基化。

[0332] 另外或可选地,可以制备具有改变类型的糖基化的抗体,例如具有减少量的岩藻糖残基的低岩藻糖化抗体或具有增加的二等分GlcNAc结构的抗体。此类改变的糖基化模式已证实增加抗体的ADCC能力。例如,通过在具有改变的糖基化机制的宿主细胞中表达抗体,可以实现这样的碳水化合物修饰。具有改变的糖基化机制的细胞已在本领域中描述,并且可用作宿主细胞,在所述宿主细胞中表达本文所述的重组抗TIM3抗体,从而产生具有改变的糖基化的抗体。例如,Hanai等人的EP 1,176,195描述了具有功能性破坏的FUT8基因(其编码岩藻糖基转移酶)的细胞系,使得在这种细胞系中表达的抗体表现出低岩藻糖基化。Presta的PCT公开WO 03/035835描述了变体CHO细胞系Led 3细胞,其具有降低的将岩藻糖与Asn(297)连接的碳水化合物的附接的能力,还导致在该宿主细胞中表达的抗体的低岩藻糖基化(也参见Shields,R.L.等人(2002)J.Biol.Chem.277:26733-26740)。Umana等人PCT公开WO 99/54342描述了经工程化以表达修饰糖蛋白的糖基转移酶{例如 β (1,4)-N-乙酰葡萄糖胺基转移酶III(GnTIII)}的细胞系,使得在工程化的细胞系中表达的抗体表现出增加的二等分GlcNAc结构,其导致抗体的ADCC活性增加(也参见Umana等人(1999)Nat.Biotech.17:176-180)。

[0333] 本文所述的抗TIM3抗体的另一种修饰是聚乙二醇化。例如,可以将抗体PEG化以增加抗体的生物(例如血清)半衰期。为了将抗体PEG化,通常将抗体或其片段与聚乙二醇(PEG)诸如PEG的反应性酯或醛衍生物反应,其在其中一个或多个PEG基团与抗体或抗体片段进行附接的条件下。在一些实施方案中,聚乙二醇化经由与反应性PEG分子(或类似的反应性水溶性聚合物)的酰化反应或烷基化反应进行。如本文使用的,术语“聚乙二醇”旨在涵盖已用于衍生其他蛋白的任何形式的PEG,例如单(CI-CIO)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-马来酰亚胺。在某些实施方案中,待PEG化的抗体是非糖基化(aglycosylated)抗体。用于将蛋白PEG化的方法是本领域已知的且可应用于本文所述的抗TIM3抗体。参见例如Nishimura等人的EP 0 154 316和Ishikawa等人的EP 0 401 384。

[0334] 在一些实施方案中,抗TIM3抗体包含重链恒定区和轻链恒定区,其中重链恒定区选自SEQ ID NO:263-266。

[0335] VIII. 抗体物理性质

抗TIM3抗体(例如本文所述的那些)具有本文所述的特异性抗TIM3抗体的一些或全部物理特征,例如实施例中描述的特征。

[0336] 本文所述的抗TIM3抗体可以在轻链或重链可变区中包含一个或多个糖基化位点。由于抗原结合的改变,这种糖基化位点可导致抗体的免疫原性增加或抗体pK的改变(Marshall等人,(1972)Annu Rev Biochem 41:673-702;Gala和Morrison(2004)J.Immunol 172:5489-94;Wallick等人,(1988)J Exp Med 168:1099-109;Spiro(2002)Glycobiology

12:43R-56R;Parekh等人,(1985)Nature 316:452-7;Mimura等人,(2000)Mol Immunol 37:697-706)。已经知晓糖基化在含有N-X-S/T序列的基序处发生。在一些情况下,抗TIM3抗体不含可变区糖基化。这可以通过选择在可变区中不包含糖基化基序的抗体或者通过在糖基化区域内突变残基来实现。

[0337] 在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体不包含天冬酰胺异构位点。天冬酰胺的去酰胺可在N-G或D-G序列上发生且引起产生异天冬氨酸残基,该异天冬氨酸残基将扭结(kink)引入多肽链中且降低其稳定性(异天冬氨酸作用)。

[0338] 每一抗体将具有独特的等电点(pi),其一般落入6-9.5的pH范围。IgG1抗体的pi通常落入7-9.5的pH范围并且IgG4抗体的pi通常落入6-8的pH范围。推测具有正常范围之外的pi的抗体可能在体内条件下具有一些解折叠和不稳定性。因此,抗TIM3抗体可含有落在正常范围内的pi值。这可以通过选择pi在正常范围内的抗体或通过突变带电荷的表面残基来实现。

[0339] 每种抗体具有特征性的溶解温度,较高的溶解温度表明体内总体稳定性较高(Krishnamurthy R和Manning M C(2002)Curr Pharm Biotechnol 3:361-71)。通常, T_{mi} (初始解折叠的温度)可以大于60°C、大于65°C或大于70°C。抗体的熔点可以使用差示扫描量热法(Chen等人,(2003)Pharm Res 20:1952-60;Ghirlando等人,(1999)Immunol Lett 68:47-52)或圆二色性(Murray等人,(2002)J.Chromatogr Sci 40:343-9)测量。

[0340] 在一个实施方案中,选择不快速降解的抗体。使用毛细管电泳(CE)和MALDI-MS(Alexander A J和Hughes D E(1995)Anal Chem 67:3626-32),可以测量抗体的降解。

[0341] 在另一个实施方案中,选择具有最小聚集作用的抗体,所述聚集作用可以导致引起不想要的免疫应答和/或改变的或不利的药代动力学特性。一般地,抗体具有25%或更少、20%或更少、15%或更少、10%或更少、或者5%或更少的聚集是可接受的。聚集可以通过几种技术进行测量,所述技术包括尺寸排阻柱(SEC)、高效液相层析(HPLC)和光散射。

[0342] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体具有在上文第(I)、(II)、(III)、(IV)、(V)、(VI)、(VII)、(VIII)和(IX)部分中描述的结构和性质的组合。在一个实施方案中,抗-TM3抗体与抗体13A3、17C3、8B9、8C4、3G4、17C8和9F6交叉竞争(如第I和/或VI部分中所述),衍生自如第III部分中所示述的种系序列,具有如第V部分所述的保守突变,和/或如第IV部分中所述,与第I和II部分中的抗TIM3抗体具有同源性并组合有本文任何地方描述的一种或多种功能特性。

[0343] IX. 工程化抗体的方法

如上所述,具有本文公开的VH和VL序列的抗TIM3抗体可用于通过修饰VH和/或VL序列或与其连接的恒定区来产生新的抗TIM3抗体。因此,在本文所述的另一个方面,本文所述的抗TIM3抗体的结构特征用于产生结构上相关的抗TIM3抗体,所述抗体保留本文所述的抗TIM3抗体的至少一种功能特性,例如与人TIM3和食蟹猴TIM3的结合。例如,如上所讨论的,17C3、8B9、8C4、3G4、17C8、9F6、13A3或TIM3.2至TIM3.18中任一者的一个或多个CDR区可以与已知的框架区和/或其他CDR重组组合以产生额外的、本文所述的重组工程化的抗TIM3抗体。其他类型的修饰包括上一节中描述的那些。用于工程化方法的起始材料是本文提供的一种或多种VH和/或VL序列、或其一个或多个CDR区。为了产生工程化抗体,不必实际制备(即,表达为蛋白)具有本文提供的一种或多种VH和/或VL序列、或其一个或多个CDR区的抗

体。相反,将序列中包含的信息用作起始材料以产生从原始序列衍生的“第二代”序列,然后制备“第二代”序列并且表达为蛋白。

[0344] 因此,本文提供了制备抗TIM3抗体的方法,其包括:

(a) 提供: (i) 重链可变区抗体序列,其包含选自SEQ ID NO:41-45的CDR1序列、选自SEQ ID NO:46-52和122-125的CDR2序列和/或选自SEQ ID NO:53-59和126-129的CDR3序列;和(ii) 轻链可变区抗体序列,其包含选自SEQ ID NO:64-65的CDR1序列、选自SEQ ID NO:66-67的CDR2序列和/或选自SEQ ID NO:68-71的CDR3序列;

(b) 改变重链可变区抗体序列和/或轻链可变区抗体序列中的至少一个氨基酸残基,以产生至少一种改变的抗体序列;和

(c) 将改变的抗体序列表达为蛋白。

[0345] 标准分子生物学技术可用于制备和表达改变的抗体序列。在一些实施方案中,由改变的抗体序列编码的抗体是保留本文所述的抗TIM3抗体的一种、一些或全部功能性质的抗体,所述性质包括:

(1) 例如以10nM或更低(例如0.01nM至10nM)的KD结合可溶性人TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所所述的;

(2) 例如以100nM或更低(例如0.01nM至100nM)的KD结合可溶性食蟹猴TIM3,例如如通过Biacore所测量的,例如如实施例中所所述的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至1 μ g/mL)的EC50结合膜结合的人TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所所述的);

(4) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的K_d结合膜结合的人TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所所述的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低(例如,0.01 μ g/mL至20 μ g/mL)的EC50结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过流式细胞术所测量的(例如,如实施例中所所述的);

(6) 例如以1nM或更低(例如0.01nM至10nM)的K_d结合膜结合的食蟹猴TIM3,例如如通过Scatchard分析所测量的,例如如实施例中所所述的;

(7) 诱导或增强T细胞活化(例如,通过阻断或降低TIM3的抑制作用),如通过(i) 表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)中IFN- γ 产生增加和/或(ii) 表达TIM3的T细胞(例如,Th1细胞或TIL)的增殖增强所证实,例如如实施例中所所述的;

(8) 在混合淋巴细胞反应(MLR)测定中刺激T细胞增殖,例如如实施例中所所述的;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合,例如如通过PS-hTIM3“串联(in-tandem)”阻断测定所测量的,例如如实施例中所所述的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时,不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域(SEQ ID NO:290)的下列区域之一: (a) CPVFECG(SEQ ID NO:296); (b) RIQIPGIMND(SEQ ID NO:298); (c) CPVFECG和RIQIPGIMND(分别为SEQ ID NO:296和298);和(d) WTSRYWLNDFR(SEQ ID NO:297),例如如实施例中所所述的;

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与这样的人TIM3的结合,在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120(如SEQ ID NO:286(图20)中所编号)中的一个或多个被另一种氨基酸取代,例如如实施例中所所述的;

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、或TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17和TIM3.18,例如如实施例中所所述的;

(14) 如通过HDX-MS所测定的,结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:368),例如如实施例中所所述的;

(15) 如通过X射线晶体学所测定的,具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区:P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120,和任选T70和/或I112(例如在实施例中所所述的;根据SEQ ID NO:286(图20)编号);和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合,具有降低的与其中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120且任选D104和Q113(根据SEQ ID NO:286(图20)编号)中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代的人TIM3的结合;(b) 如通过HDX-MS所测定的,结合⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:368)和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷(SEQ ID NO:373),如实施例中所所述的;和/或(c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合,例如如实施例中所所述的。

[0346] 改变的抗体可以表现出如上文(1)至(16)所述的功能特性的一种或多种,两种或多种、三种或多种、四种或多种、五种或多种、六种或多种、七种或多种、八种或多种、九种或多种或全部。可以使用本领域可获得的和/或本文所述的标准测定来评估改变的抗体的功能特性,所述标准测定例如实施例中所所述的那些(例如,ELISA、FACS)。

[0347] 在工程化本文所述的抗TIM3抗体的方法的某些实施方案中,可以沿着全部或部分抗TIM3抗体编码序列随机或选择性地引入突变,并且可以筛选所得的修饰的抗TIM3抗体的结合活性和/或如本文所述的其他功能特性。本领域已经描述了突变方法。例如,Short的PCT公开W0 02/092780描述了使用饱和诱变、合成连接装配或其组合产生和筛选抗体突变的方法。可选地,Lazar等人的PCT公开W0 03/074679描述了使用计算筛选方法来优化抗体的生理化学特性的方法。

[0348] X. 核酸分子

本文所述的另一方面涉及编码本文所述的抗TIM3抗体的核酸分子。核酸可以存在于完整细胞中、细胞裂解物中、或部分纯化或实质上纯化形式中。当通过标准技术包括碱性/SDS处理、CsCl条带、柱层析、限制酶、琼脂糖凝胶电泳和本领域中公知的其他技术将核酸从其他细胞组分或其他污染物例如其他细胞核酸(例如,其他染色体DNA,例如天然连接到分离的DNA上的染色体DNA)或蛋白中纯化出时,所述核酸“被分离”或使所述核酸“实质上纯的”。参见F.Ausubel,等人,编辑(1987)Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York。本文所述的核酸例如可以是DNA或RNA,且可以包含或不包含内含子序列。在某些实施方案中,核酸是cDNA分子。

[0349] 本文所述的核酸可以使用标准分子生物学技术获得。对于由杂交瘤(例如从携带有如下文进一步所述的人免疫球蛋白基因的转基因小鼠中制备的杂交瘤)表达的抗体,编码由杂交瘤制备的抗体的轻链和重链的cDNA可以通过标准PCR扩增或cDNA克隆技术获得。对于获自免疫球蛋白基因文库(例如使用噬菌体展示技术)的抗体,可以从文库中回收编码

抗体的核酸。

[0350] 本文所述的一些核酸分子是编码13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4、17C8或TIM3.2至TIM3.18抗体中任一者的VH和VL序列的核酸分子。编码13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的VH序列的示例性DNA序列显示于SEQ ID NO:167-173、245-254和359。编码13A3、17C3和3G4的VL序列的示例性DNA序列显示于SEQ ID NO:193。编码8B9、8C4和17C8的VL序列的示例性DNA序列显示于SEQ ID NO:194。编码9F6的VL序列的示例性DNA序列显示于SEQ ID NO:194-196。编码13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的重链序列的示例性DNA序列显示于SEQ ID NO:134-161、205-244和355-358。编码13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的轻链序列的示例性DNA序列显示于SEQ ID NO:162-166。

[0351] 编码13A3.IgG1.1和13A3.IgG1.3(相同可变区)抗体的成熟VH和VL结构域的示例性核酸分别如SEQ ID NO:167和193所示。编码13A3.IgG1.1和13A3.IgG1.3抗体的成熟重链的示例性核酸分别如SEQ ID NO:134和148所示,并且编码13A3.IgG1.1和13A3.IgG1.3抗体的成熟轻链的示例性核酸如SEQ ID NO:162所示。

[0352] 编码8B9.IgG1.1和8B9.IgG1.3(相同可变区)抗体的成熟VH和VL结构域的示例性核酸分别如SEQ ID NO:168和194所示。编码8B9.IgG1.1和8B9.IgG1.3抗体的成熟重链的示例性核酸分别如SEQ ID NO:135和149所示,并且编码8B9.IgG1.1和8B9.IgG1.3抗体的成熟轻链的示例性核酸如SEQ ID NO:163所示。

[0353] 编码8C4.IgG1.1和8C4.IgG1.3(相同可变区)抗体的成熟VH和VL结构域的示例性核酸分别如SEQ ID NO:169和194所示。编码8C4.IgG1.1和8C4.IgG1.3抗体的成熟重链的示例性核酸分别如SEQ ID NO:136和150所示,并且编码8C4.IgG1.1和8C4.IgG1.3抗体的成熟轻链的示例性核酸如SEQ ID NO:163所示。

[0354] 编码17C3.IgG1.1和17C3.IgG1.3(相同可变区)抗体的成熟VH和VL结构域的示例性核酸分别如SEQ ID NO:170和193所示。编码17C3.IgG1.1和17C3.IgG1.3抗体的成熟重链的示例性核酸分别如SEQ ID NO:137和151所示,并且编码17C3.IgG1.1和17C3.IgG1.3抗体的成熟轻链的示例性核酸如SEQ ID NO:162所示。

[0355] 编码9F6.IgG1.1和9F6.IgG1.3(相同可变区)抗体的成熟VH和VL结构域的示例性核酸分别如SEQ ID NO:171和197所示。编码9F6.IgG1.1和9F6.IgG1.3抗体的成熟重链的示例性核酸分别如SEQ ID NO:138和152所示,并且编码9F6.IgG1.1和9F6.IgG1.3抗体的成熟轻链的示例性核酸如SEQ ID NO:166所示。

[0356] 编码3G4.IgG1.1和3G4.IgG1.3(相同可变区)抗体的成熟VH和VL结构域的示例性核酸分别如SEQ ID NO:172和193所示。编码3G4.IgG1.1和3G4.IgG1.3抗体的成熟重链的示例性核酸分别如SEQ ID NO:139和153所示,并且编码3G4.IgG1.1和3G4.IgG1.3抗体的成熟轻链的示例性核酸如SEQ ID NO:162所示。

[0357] 编码17C8.IgG1.1和17C8.IgG1.3(相同可变区)抗体的成熟VH和VL结构域的示例性核酸分别如SEQ ID NO:173和194所示。编码17C8.IgG1.1和17C8.IgG1.3抗体的成熟重链的示例性核酸分别如SEQ ID NO:140和154所示,并且编码17C8.IgG1.1和17C8.IgG1.3抗体的成熟轻链的示例性核酸如SEQ ID NO:163所示。

[0358] 上述示例性核酸可以进一步包括SEQ ID NO:267-271和361中所示的信号肽。编码这些信号肽的核苷酸序列如SEQ ID NO:272-276、362和363所示。

[0359] 可修饰本文所述的核酸分子以删除特定序列例如限制酶识别序列或以优化密码子。

[0360] 制备13A3 IgG1.1、8B9 IgG1.1、8C4 IgG1.1、17C3 IgG1.1、9F6 IgG1.1、3G4IgG1.1、17C8 IgG1.1和/或TIM3.2至TIM3.18 IgG1.1的方法可以包括在细胞系中表达重链和轻链,所述细胞系包含编码重链和轻链及信号肽的核苷酸序列,例如对于13A3 IgG1.1分别为SEQ ID NO:269和268。制备13A3 IgG1.3、8B9 IgG1.3、8C4 IgG1.3、17C3 IgG1.3、9F6 IgG1.3、3G4 IgG1.3和/或17C8 IgG1.3的方法可以包括在细胞系中表达重链和轻链,所述细胞系包含编码重链和轻链及信号肽的核苷酸序列,例如对于13A3 IgG1.3分别为SEQ ID NO:274和273。包含这些核苷酸序列的宿主细胞包括在本文中。

[0361] 一旦获得编码VH和VL区段的DNA片段,可以通过标准重组DNA技术进一步操作这些DNA片段,例如,以转变可变区基因为全长抗体链基因、Fab片段基因或scFv基因。在这些实施方案中,编码VL或VH的DNA片段可操作地连接至编码另一蛋白的另一DNA片段,诸如抗体恒定区或柔性接头。如本上下文中所用的术语“可操作地连接”旨在意指将两个DNA片段连接,使得由两个DNA片段编码的氨基酸序列保持框内(in-frame)。

[0362] 编码VH区的分离的DNA可以转变为全长重链基因,其通过将编码VH的DNA可操作地连接至编码重链恒定区(铰链、CH1、CH2和/或CH3)的另一DNA分子。人重链恒定区基因的序列是本领域已知的(参见例如Kabat,E.A.等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242)并且包括这些区域的DNA片段可以通过标准PCR扩增获得。重链恒定区可以是IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恒定区,例如,IgG1区。对于Fab片段重链基因,编码VH的DNA可以可操作地连接至仅编码重链CH1恒定区的另一DNA分子。

[0363] 编码VL区的分离的DNA可以转变为全长轻链基因(以及Fab轻链基因),其通过将编码VL的DNA可操作地连接至编码轻链恒定区CL的另一DNA分子。人轻链恒定区基因的序列是本领域已知的(参见例如Kabat,E.A.等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242)并且包括这些区域的DNA片段可以通过标准PCR扩增获得。轻链恒定区可以是 κ 或 λ 恒定区。

[0364] 为了产生scFv基因,将编码VH和VL的DNA片段可操作地连接至编码柔性接头例如编码氨基酸序列(Gly₄-Ser)₃的另一片段,使得VH和VL序列可以表达为连续单链蛋白,且VL和VH区由柔性接头连接(参见例如,Bird等人,(1988) Science 242:423-426;Huston等人,(1988) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883;McCafferty等人,(1990) Nature 348:552-554)。

[0365] 本文还提供了编码VH和VL序列的核酸分子,其与17C3、8B9、8C4、3G4、17C8、9F6、13A3和任何TIM3.2至TIM3.18抗体的序列同源。示例性核酸分子编码与编码17C3、8B9、8C4、3G4、17C8、9F6、13A3或任何TIM3.2至TIM3.18抗体的VH和VL序列的核酸分子具有至少70%同一性、例如至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%同一性的VH和VL序列。本文还提供了具有保守取代的核酸分子(即,在核酸分子翻译时不改变所得氨基酸序列的取代)例如用于密码子优化。

[0366] 还提供了编码抗TIM3抗体(例如本文所述的抗TIM3抗体)的VH和/或VL区的核酸,

所述核酸包含与编码本文所述抗TIM3抗体的VH和/或VL区的任何核苷酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核苷酸序列。

[0367] 还提供了编码抗TIM3抗体(例如本文所述的抗TIM3抗体)的重链和/或轻链的核酸,所述核酸包含与编码本文所述抗TIM3抗体的重链和/或轻链的任何核苷酸序列具有至少约75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核苷酸序列。

[0368] XI. 抗体产生

本文所述的单克隆抗TIM3抗体可使用多种已知技术产生,例如Kohler和Milstein, Nature 256:495 (1975) 描述的标准体细胞杂交技术。尽管优选体细胞杂交程序,但原则上,其他用于产生单克隆抗体的技术也可以采用,例如,B淋巴细胞的病毒或致癌性转化、使用人抗体基因文库的噬菌体展示技术。

[0369] 用于制备杂交瘤的优选动物系统是鼠系统。在小鼠中的杂交瘤产生是非常完善的程序。用于分离用于融合的经免疫的脾细胞的免疫方案和技术是本领域中已知的。融合配偶体(例如,鼠骨髓瘤细胞)和融合程序也是已知的。

[0370] 本文所述的嵌合或人源化抗TIM3抗体可以基于如上所述制备的鼠单克隆抗体的序列来制备。编码重链和轻链免疫球蛋白的DNA可以使用标准分子生物学技术获自目标鼠杂交瘤并且经工程化以包含非鼠(例如人)免疫球蛋白序列。例如,为了产生嵌合抗体,可以使用本领域中已知的方法将鼠可变区连接至人恒定区(参见例如Cabilly等人的美国专利号4,816,567)。为了产生人源化抗体,可以使用本领域已知的方法将鼠CDR区插入人框架中(参见例如Winter的美国专利号5,225,539和Queen等人的美国专利号5,530,101;5,585,089;5,693,762和6,180,370)。

[0371] 在一个实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体是人单克隆抗体。此类针对TIM3的人单克隆抗体可以使用携带部分人免疫系统而非小鼠系统的转基因或转染色体小鼠来产生。这些转基因和转染色体小鼠包括本文分别称为HuMAb小鼠和KM小鼠的小鼠,并且在本文中一并称为“人Ig小鼠”。

[0372] HuMAb小鼠® (Medarex, Inc.) 含有编码未重排的人重链(μ 和 γ)和 κ 轻链免疫球蛋白序列的人免疫球蛋白基因微基因座(miniloci),连同失活内源 μ 和 κ 链基因座的靶向突变(参见例如, Lonberg, 等人, (1994) Nature 368(6474):856-859)。因此,小鼠展示出小鼠IgM或 κ 的表达降低,并且响应于免疫,引入的人重链和轻链转基因经历类别转换和体细胞突变以产生高亲和力的人IgGK单克隆(Lonberg, N. 等人(1994), 上文;综述于Lonberg, N. (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101; Lonberg, N. 和Huszar, D. (1995) Intern. Rev. Immunol. 13:65-93, 和Harding, F. 和Lonberg, N. (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 764:536-546)。制备和使用HuMAb小鼠和通过此类小鼠携带的基因组修饰进一步描述于Taylor, L. 等人(1992) Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen, J. 等人, (1993) International Immunology 5:647-656; Tuailon 等人(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:3720-3724; Choi 等人(1993) Nature Genetics 4:117-123; Chen, J. 等人(1993) EMBO J. 12:821-830; Tuailon 等人(1994) Immunol. 152:2912-2920; Taylor, L. 等人(1994) International Immunology 6:579-591; 和Fishwild, D. 等人(1996) Nature Biotechnology 14:845-851。进一步参见美国专利号5,545,806;5,569,825;5,625,126;5,633,425;5,789,650;5,877,397;5,661,016;5,814,318;5,874,299;和5,770,

429;均属于Lonberg和Kay;Surani等人的美国专利号5,545,807;PCT公开号W0 92/03918、W0 93/12227、W0 94/25585、W0 97/13852、W0 98/24884和W0 99/45962,均属于Lonberg和Kay;和Korman等人的PCR公开号W0 01/14424。

[0373] 在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体使用携带转基因和转染色体上的人免疫球蛋白序列的小鼠诸如携带人重链转基因和人轻链转染色体的小鼠来产生。此类小鼠在本文称为“KM小鼠”,详细描述于Ishida等人的PCR公开W0 02/43478中。

[0374] 仍进一步,表达人免疫球蛋白基因的可选转基因动物系统是本领域可获得的并且可用于产生本文所述的抗TIM3抗体。例如,可以使用称为Xenomouse (Abgenix, Inc.) 的可选转基因系统;此类小鼠描述于例如Kucherlapati等人的美国专利号5,939,598;6,075,181;6,114,598;6,150,584和6,162,963。

[0375] 此外,表达人免疫球蛋白基因的可选转染色体动物系统是本领域可获得的并且可用于产生本文所述的抗TIM3抗体。例如,可以使用称为“TC小鼠”的携带人重链转染色体和人轻链转染色体的小鼠;此类小鼠描述于Tomizuka等人(2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727。此外,本领域中已经描述了携带人重链和轻链转折染色体的牛(Kuroiwa等人(2002) Nature Biotechnology 20:889-894)并且其可用于产生本文所述的抗TIM3抗体。

[0376] 本领域中所所述的用于产生人抗体(例如人抗TIM3抗体)的另外的小鼠系统包括:(i) VELOCLMMUNE®小鼠(Regeneron Pharmaceuticals, Inc.), 其中已经经同源重组用可操作地连接至内源小鼠恒定区的人重链和轻链可变区替代内源小鼠重链和轻链可变区,使得在小鼠中产生嵌合抗体(人V/小鼠C),并随后使用标准重组DNA技术转换为完全人抗体;和(ii) MEMO®小鼠(Merus Biopharmaceuticals, Inc.), 其中小鼠包含未重排的人重链可变区但单一重排的人共同轻链可变区。此类小鼠及其产生抗体的用途描述于例如W0 2009/15777、US 2010/0069614、W0 2011/072204、W0 2011/097603、W0 2011/163311、W0 2011/163314、W0 2012/148873、US 2012/0070861和US 2012/0073004。

[0377] 本文所述的人单克隆抗TIM3抗体还可以使用用于筛选人免疫球蛋白基因文库的噬菌体展示方法来制备。用于分离人抗体的此类噬菌体展示方法在本领域中已建立。参见例如:Ladner等人的美国专利号5,223,409;5,403,484;和5,571,698;Dower等人的美国专利号5,427,908和5,580,717;McCafferty等人的美国专利号5,969,108和6,172,197;和Griffiths等人的美国专利号5,885,793;6,521,404;6,544,731;6,555,313;6,582,915和6,593,081。

[0378] 本文所述的人单克隆抗TIM3抗体也可以使用SCID小鼠来制备,已经将人免疫细胞重构入所述SCID小鼠,使得免疫后可以产生人抗体应答。此类小鼠描述于例如Wilson等人的美国专利号5,476,996和5,698,767中。

[0379] XI.A. 免疫

为了产生针对TIM3的完全人抗体,可以用TIM3抗原的纯化或富集制剂和/或表达TIM3或其片段的细胞免疫含有人免疫球蛋白基因的转基因或转染色体小鼠(例如HCo12、HCo7或KM小鼠),如例如由Lonberg等人,(1994) Nature 368(6474):856-859;Fishwild等人,(1996) Nature Biotechnology 14:845-851和W0 98/24884对于其他抗原所述。可选地,可以用编码人TIM3或其片段的DNA免疫小鼠。在一些实施方案中,小鼠在第一次输注时可以为6-16周龄。例如,重组TIM3抗原的纯化的或富集的制备物(5-50 μ g)可用于腹膜内免疫

HuMAb小鼠。在使用纯化的或富集的TIM3抗原制备物免疫不产生抗体的情况中,还可以用表达TIM3的细胞例如细胞系免疫小鼠以促进免疫应答。示例性细胞系包括过表达TIM3的稳定CHO和Raji细胞系。

[0380] 用各种抗原的经验累积已显示用在Ribi氏佐剂中的抗原腹膜内(IP)或皮下(SC)初始免疫随后每隔一周用Ribi氏佐剂中的抗原IP/SC免疫(最高至总共10次)时,HuMAb转基因小鼠应答最好。免疫应答可以随免疫方案过程用通过框后出血获得的血浆样品来监测。血浆可以通过ELISA和FACS(如下文所述)来筛选并且具有抗TIM3人免疫球蛋白的足够滴度的小鼠可用于融合。可以在处死并移除脾和淋巴结前3天用抗原静脉内对小鼠加强。预期对于每一免疫可能需要进行2-3次融合。对于每一抗原通常免疫6-24只小鼠。通常,使用HCo7、HCo12和KM品系。此外,HCo7和HCo12转基因可以一同繁殖为具有两种不同人重链转基因(HCo7/HCo12)的单一小鼠。

[0381] XI.B.生产针对TIM3的单克隆抗体的杂交瘤的产生

为了产生生产本文所述的人单克隆抗TIM3抗体的杂交瘤,可以从经免疫的小鼠分离脾细胞和/或淋巴结细胞并融合至合适的无限增殖化细胞系,诸如小鼠骨髓瘤细胞系。可以针对抗原-特异性的抗体的生产,筛选得到的杂交瘤。例如,来自经免疫的小鼠的脾淋巴细胞的单细胞悬浮液可以用PEG融合至Sp2/0非分泌小鼠骨髓瘤细胞(ATCC,CRL 1581)。可以将细胞铺板在平底微量滴定板中,然后在选择性培养基中孵育。几周后,细胞可以在培养基中培养。各个孔可以随后通过用于人单克隆IgM和IgG抗体的ELISA来筛选。一旦出现大量杂交瘤生长,通常在10-14天后可以观察培养基。将分泌抗体的杂交瘤再铺板,再次筛选,并且如果仍对于人IgG为阳性,则可以通过有限稀释将单克隆抗体亚克隆至少两次。稳定的亚克隆可以随后体外培养以在组织培养基中产生少量的抗体用于表征。

[0382] 为了纯化人单克隆抗体,所选的杂交瘤可以在两升旋转瓶(spinner-flask)中生长用于单克隆抗体纯化。可以将上清液过滤并浓缩,随后用蛋白A-琼脂糖(Pharmacia,Piscataway,N.J.)亲和层析。洗脱的IgG可以通过凝胶电泳和高效液相层析检查以确保纯度。可以将缓冲液交换至PBS并可以使用1.43消光系数通过OD280测定浓度。可以将单克隆抗体进行等分并存储。

[0383] XI.C.生产针对TIM3的单克隆抗体的转染瘤的产生

可以使用例如如本领域熟知的重组DNA技术和基因转染方法的组合在宿主细胞转染瘤中产生抗体(Morrison,S.(1985)Science 229:1202)。

[0384] 例如,为了表达抗体或其抗体片段,可以通过标准分子生物学技术(例如,使用表达目标抗体的杂交瘤的PCR扩增或cDNA克隆)获得编码部分或全长轻链和重链的DNA,并且可以将DNA插入表达载体中,从而将基因可操作地连接至转录和翻译控制序列。在本上下文中,术语“可操作地连接”旨在意指将抗体基因连接入载体内使得载体内的转录和翻译控制序列行使其调节转录和翻译抗体基因的预期功能。选择表达载体和表达控制序列以与所用的表达宿主细胞相容。可以将抗体轻链基因和抗体重链基因插入单独的载体或者将两个基因插入同一表达载体。通过标准方法(例如,抗体基因片段和载体上的互补性限制位点连接或平端连接(如果不存在限制性位点的话))将抗体基因插入表达载体中。本文所述的抗TIM3抗体的轻链和重链可变区可用于产生任何抗体同种型的全长抗体基因,其通过将它们插入已经编码期望的同种型的重链恒定区和轻链恒定区的表达载体内,使得V_H区段可操作

地连接至载体内的C_H区段并且V_L区段可操作地连接至载体内的C_L区段。

[0385] 另外地或可选地,重组表达载体可以编码促进抗体链从宿主细胞分泌的单一肽。可以将抗体链基因克隆入载体中,使得单一肽框内连接至抗体链基因的氨基末端。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即来自非免疫球蛋白蛋白的信号肽)。

[0386] 在示例性实施方案中,可以使用来自人抗体重链和轻链的以下信号肽: MDWTWRVFCLLAVAPGAHS (SEQ ID NO:267); METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO:268); MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO:269); MEFGLSWVFLVAIIKGVQC (SEQ ID NO:270); MDMRVPAQLLGLLLWLPGARC (SEQ ID NO:271)或MRAWIFFLLCLAGRALA (SEQ ID NO:361)。在一个具体实施方案中,用于表达本文所述的任何一种抗TIM3抗体的信号序列是SEQ ID NO:361。抗TIM3抗体的重链和轻链可以和与各个链连接的相应信号序列在它们自其克隆的杂交瘤中表达。以下是它们自其克隆的杂交瘤中存在的各种抗TIM3抗体的信号序列,所述信号序列可用于表达相同抗体或另一种抗体:

(i) 13A3 VH信号序列的氨基酸序列: MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO: 269)

(ii) 13A3 VH信号序列的核酸序列:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC (SEQ ID NO: 274)

(iii) 13A3 VL信号序列的氨基酸序列: METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268)

(iv) 13A3 VL信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273)

(v) 8B9 VH信号序列的氨基酸序列: MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO: 269)

(vi) 8B9 VH信号序列的核酸序列:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC (SEQ ID NO: 274)

(vii) 8B9 VL信号序列的氨基酸序列: METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268)

(viii) 8B9 VL信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273)

(ix) 8C4 VH信号序列的氨基酸序列: MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO: 269)

(x) 8C4 VH信号序列的核酸序列:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC (SEQ ID NO: 274)

(xi) 8C4 VL信号序列的氨基酸序列: METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268)

(xii) 8C4 VL信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273)

(xiii) 17C3 VH信号序列的氨基酸序列: MDWTWRVFCLLAVAPGAHS (SEQ ID NO: 267)

(xiv) 17C3 VH信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 272)

(xv) 17C3 VL信号序列的氨基酸序列: METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268)

(xvi) 17C3 VL信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273)

(xvii) 9F6 VH信号序列的氨基酸序列: MEFGLSWVFLVAIIKGVQC (SEQ ID NO: 270)

(xviii) 9F6 VH信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 275)

(xix) 9F6 VL1信号序列的氨基酸序列:

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO: 271)

(xx) 9F6 VL1信号序列的核酸序列:

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCAGATGT (SEQ ID NO: 276)

(xxi) 9F6 VL2和VL3信号序列的氨基酸序列:

METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268)

(xxii) 9F6 VL2和VL3信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273)

(xxiii) 3G4 VH信号序列的氨基酸序列: MEFGLSWVFLVAIIKGVQC (SEQ ID NO: 270)

(xxiv) 3G4 VH信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 275)

(xxv) 3G4 VL信号序列的氨基酸序列: METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268)

(xxvi) 3G4 VL信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273)

(xxvii) 17C8 VH信号序列的氨基酸序列: MEFGLSWVFLVAIIKGVQC (SEQ ID NO: 270)

(xxviii) 17C8 VH信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 275)

(xxix) 17C8 VL信号序列的氨基酸序列: METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268)

(xxx) 17C8 VL信号序列的核酸序列:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273)

[0387] 在另一个实施方案中,抗TIM3抗体(例如,TIM3.2至TIM3.18)的重链和轻链可以用

信号序列工程化,所述信号序列不同于它们自其克隆的杂交瘤中存在的信号序列。此类序列的实例包括但不限于下列:

(i) 重链的信号序列的核酸序列:

ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGAGAGCGCTCGCA (SEQ ID NO: 362)

(ii) 轻链的信号序列的核酸序列:

ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGCGCGCCTTGGCC (SEQ ID NO: 363)

(iii) 重链和轻链的信号序列的氨基酸序列: MRAWIFFLLCLAGRALA (SEQ ID NO: 361)。

[0388] 除了抗体链基因外,重组表达载体可以携带控制抗体链基因在宿主细胞中表达的调节序列。术语“调节序列”意欲包括启动子、增强子及其他表达控制元件(例如多腺苷酸化信号),其控制抗体链基因的转录或翻译。此类调节序列例如描述于Goeddel (Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA (1990))。本领域技术人员将理解设计表达载体包括选择调节序列可以依赖于作为待转化的宿主细胞的选择的此类因子、期望蛋白的表达水平等。优选的用于哺乳动物宿主细胞表达的调节序列包括指导哺乳动物细胞中高水平蛋白表达的病毒元件,诸如衍生自巨细胞病毒(CMV)、猿猴病毒40(SV40)、腺病毒(例如,腺病毒主要晚期启动子(AdMLP)和多瘤病毒的启动子和/或增强子。可选地,可以使用非病毒调节序列,诸如泛素启动子或 β -珠蛋白启动子。还进一步,调节元件由来自不同来源的序列构成,诸如SRa启动子系统,其包含来自SV40早期启动子的序列和人T细胞白血病病毒1型的长末端重复(Takebe, Y. 等人(1988) Mol. Cell. Biol. 8:466-472)。

[0389] 除抗体链基因和调节序列之外,重组表达载体可以携带另外的序列,例如调节宿主细胞中的载体复制的序列(例如复制起点)和可选标记基因。可选标记基因促进选择其中已引入载体的宿主细胞(参见例如美国专利号4,399,216、4,634,665和5,179,017,均属于Axel等人)。例如,通常可选标记基因赋予其中已引入载体的宿主细胞对药物诸如G418、潮霉素或甲氨蝶呤的抗性。优选的可选标记基因包括二氢叶酸还原酶(DHFR)基因(用于用甲氨蝶呤选择/扩增的dhfr-宿主细胞)和neo基因(用于G418选择)。

[0390] 为了表达轻链和重链,通过标准技术将编码重链和轻链的表达载体转染入宿主细胞。各种形式的术语“转染”意欲涵盖通常用于将外源DNA引入原核或真核宿主细胞内的广泛多样的技术,例如电穿孔、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等。

[0391] 尽管理论上可以在原核或真核宿主细胞中表达本文所述的抗TIM3抗体,但在真核细胞且最优选在哺乳动物宿主细胞中表达抗体是最优选的,因为此类真核细胞特别是哺乳动物细胞比原核细胞更可能装配和分泌正确折叠且免疫学有活性的抗体。已报道抗体基因的原核表达无法有效产生高产量的活性抗体(Boss, M. A. 和Wood, C. R. (1985) Immunology Today 6:12-13)。

[0392] 用于表达本文所述的重组抗TIM3抗体的某些哺乳动物宿主细胞包括中国仓鼠卵巢(CHO细胞)(包括dhfr-CHO细胞,其描述于Urlaub和Chasin(1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220,与DHRF可选标记一同使用,例如如描述于R. J. Kaufman和P. A. Sharp(1982) Mol. Biol. 759:601-621)、NS0骨髓瘤细胞、COS细胞和SP2细胞。具体地,与NS0骨髓瘤细胞使用,另一表达系统是描述于WO 87/04462、WO 89/01036和

EP 338,841中的GS基因表达系统。当将编码抗体基因的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞时,通过将宿主细胞培养足以允许抗体在宿主细胞中表达或更优选地分泌抗体至宿主细胞生长的培养基中的时期来产生抗体。抗体可以使用标准蛋白纯化方法从培养基中回收。

[0393] XII. 测定

可以通过例如标准ELISA测试本文所述的抗TIM3抗体与人TIM3的结合。简而言之,用纯化的TIM3包被微量滴定板,然后用牛血清白蛋白封闭。将抗体稀释液(例如,来自TIM3免疫小鼠的血浆稀释液)加入每个孔中并孵育。洗涤平板并与缀合至辣根过氧化物酶(HRP)的第二试剂(例如,对于人抗体,山羊抗人IgG Fc特异性多克隆试剂)一起孵育。洗涤后,可以将板显影并用分光光度计分析。来自经免疫小鼠的血清可以随后进一步通过流式细胞术筛选与表达人TIM3的细胞系结合但不与不表达TIM3的对照细胞系结合。简而言之,可以通过将表达TIM3的CHO细胞与抗TIM3抗体孵育来评估抗TIM3抗体的结合。可以洗涤细胞并且可以用抗人IgG Ab检测结合。可以使用FACScan流式细胞术(Becton Dickinson, San Jose, CA)进行流式细胞术分析。产生最高滴度的小鼠可用于融合。

[0394] 上文所述的ELISA测定可用于筛选抗体并且因此筛选产生显示与TIM3免疫原的阳性反应性的抗体的杂交瘤。产生以高亲和力结合TIM3的抗体的杂交瘤可随后进行亚克隆并进一步表征。来自每一杂交瘤的一个克隆(其保留亲本细胞的反应性(通过ELISA))可以选择用于产生细胞库和抗体纯化。

[0395] 为了纯化抗TIM3抗体,可以培养选择的杂交瘤用于单克隆抗体纯化。可以在亲和层析之前过滤并浓缩上清液。洗脱的IgG可以通过凝胶电泳和高效液相层析检查以确保纯度。可以交换缓冲溶液,并且可以确定浓度。可以将单克隆抗体进行等分并存储。

[0396] 为了确定所选的抗TIM3单克隆抗体是否结合独特表位,可以将每一抗体使用可商购试剂(Pierce, Rockford, IL)进行生物素化。生物素化的MAb结合可以用链霉抗生物素标记的探针检测。使用未标记的单克隆抗体和生物素化的单克隆抗体的竞争研究可以使用如上所述的TIM3包被的ELISA板进行。

[0397] 为了确定纯化抗体的同种型,可以使用对于特定同种型的抗体特异性的试剂进行同种型ELISA。例如,为了确定人单克隆抗体的同种型,可以将微量滴定板的孔用1 μ g/ml的抗人免疫球蛋白在4 $^{\circ}$ C包被过夜。用1% BSA封闭后,将板与1 μ g/ml或更少的测试单克隆抗体或纯化的同种型对照在室温下反应1至2小时。孔随后可以与人IgG1或人IgM特异性的碱性磷酸酶缀合的探针反应。将板显色并如上所述分析。

[0398] 为了测试单克隆抗体与表达TIM3的活细胞的结合,可以使用流式细胞术,如实施例中所述。简言之,将表达膜结合的TIM3的细胞系(在标准生长条件下生长)与各种浓度的在含0.1% BSA的PBS中的单克隆抗体在4 $^{\circ}$ C下混合1小时。洗涤后,将细胞与荧光素标记的抗IgG抗体在如一级抗体染色的相同条件下反应。样品可以通过FACScan仪器使用光和侧散射性质分析以门控单细胞,并且测定经标记抗体的结合。(除了流式细胞术测定之外,或代替流式细胞术)使用荧光显微术的可选测定可以使用。细胞可如上所述准确染色并通过荧光显微术来检查。该方法允许个别细胞的显色,但取决于抗原密度,可能具有减少的灵敏度。

[0399] 抗TIM3抗体可以进一步通过蛋白质印迹测试与TIM3抗原的反应性。简言之,来自表达TIM3的细胞的细胞提取物可以制备并进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳。电泳

后,将分离的抗原转移至硝酸纤维素膜,用20%小鼠血清封闭,并用待测试的单克隆抗体探测。IgG结合可以使用抗IgG碱性磷酸酶检测并且用BCIP/NBT底物片剂(Sigma Chem.Co., St.Louis,MO)来显色。

[0400] 用于分析各种抗TIM3抗体的结合亲和力、交叉反应性和结合动力学的方法包括本领域已知的标准测定,例如,Biacore™表面等离子共振 (SPR) 分析,其使用Biacore™2000 SPR仪器 (Biacore AB,Uppsala,Sweden)。

[0401] 可以使用多种测定来表征抗TIM3抗体的生物活性 (其可以用于例如比较不同的抗TIM3抗体),所述测定例如本文所述的那些:

(1) T细胞活化测定,例如使用从人供体的PBMC获得的纯化T细胞的测定。可以用总T细胞或其亚群例如Th1细胞、T细胞毒性细胞、Treg细胞、CD4+ T细胞、CD8+ T细胞 (条件是它们表达TIM3) 进行测定。可以通过测定某些细胞因子 (例如干扰素- γ 或IL-2) 的分泌水平或T细胞的增殖水平来测量活化。不希望受限于特定的作用机制,TIM3抗体与T细胞上TIM3的结合可能阻止TIM3与TIM3配体的结合 (TIM3推定的配体包括半乳凝集素-9、HMGB1、Semaphorin-4A、CEACAM-1、ILT-4和磷脂酰丝氨酸),从而阻止T细胞中TIM3介导的信号传导,从而防止TIM3对T细胞的负调节。在实施例提供了示例性测定,包括Th1测定、TIL测定和混合淋巴细胞反应 (MLR);

(2) 测量巨噬细胞例如M1或M2巨噬细胞刺激的测定;和

(3) 测量来自TIM3阳性骨髓细胞的髓样相关细胞因子 (例如TNF α 、IL-1 β 、GM-CSF、IL-6、IL-2、IL-10、CCL2、CCL3、CCL4或CCL5) 的分泌的测定。在某些实施方案中,抗TIM3抗体刺激TNF α 、IL-1 β 、GM-CSF、IL-6和IL-2的分泌和/或抑制TIM3阳性骨髓细胞中IL-10、CCL2、CCL3、CCL4或CCL5的分泌。

[0402] 通常,用于测试抑制免疫应答的药剂的生物活性的任何方法可用于表征抗TIM3抗体的生物活性,例如与TIM3有关的文献 (包括专利和专利申请) 中描述的那些。

[0403] XIII. 免疫缀合物、抗体衍生物和诊断

本文所述的抗TIM3抗体可用于诊断目的,包括样品测试和体内成像,并且为此目的,可将抗体 (或其结合片段) 缀合至合适的可检测试剂,以形成免疫缀合物。出于诊断目的,适当的试剂是可检测标记,其包括放射性同位素 (用于全身成像) 以及放射性同位素、酶、荧光标记和用于样品测试的其他合适的抗体标签。

[0404] 可与本文所述的任何TIM3抗体连接的可检测标记可以是目前体外诊断领域中使用的各种类型的任一种,包括颗粒标记,包括金属溶胶,例如胶体金、同位素例如用例如N₂S₂、N₃S或N₄类型的肽螯合剂呈现的I¹²⁵或Tc⁹⁹、发色团包括荧光标记、发光标记、磷光标记等,以及将给定底物转化为可检测标记的酶标记,以及扩增 (例如通过聚合酶链式反应) 后显示的多核苷酸标签。合适的酶标记包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶等。例如,标记可以是酶碱性磷酸酶,其通过测量1,2-二氧杂环丁烷底物例如金刚烷基甲氧基磷酰氧基苯基二氧杂环丁烷 (AMPPD)、3-(4-(甲氧基螺{1,2-二氧杂环丁烷-3,2'-(5'-氯)三环{3.3.1.1^{3,7}}癸烷}-4-基)苯基磷酸二钠 (CSPD) 以及CDP和CDP-star[®]或本领域技术人员熟知的其他发光底物,例如合适的镧系元素如铽 (III) 和铕 (III) 的螯合物转化后的化学发光的存在或形成来检测。检测装置由所选标记决定。标记或其反应产物的外观可以使用肉眼 (在标记是颗粒并且以适当的水平累积的情况下) 或者使用仪器诸如分光光度计、发光计、荧光计等实

现,均根据标准惯例。

[0405] 在一些实施方案中,缀合方法产生实质上(或几乎)无免疫原性的键,例如肽键(即酰胺键)、硫化物键、(空间位阻的键)、二硫化物键、胺键和醚键。这些键是几乎无免疫原性的并且在血清内显示出合理的稳定性(参见例如Senter, P.D., *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13 (2009) 235-244; WO 2009/059278; WO 95/17886)。

[0406] 取决于部分和抗体的生物化学性质,可以采用不同的缀合策略。如果所述部分是天然存在的或重组的50至500个氨基酸,则在教科书中有标准程序描述蛋白缀合物的合成化学,本领域技术人员可以容易地遵循该程序(参见例如Hackenberger, C.P.R., 和 Schwarzer, D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 47 (2008) 10030-10074)。在一个实施方案中,使用马来酰亚胺基团与抗体或部分内的半胱氨酸残基的反应。在例如使用抗体的Fab或Fab'片段的情况下,这是特别适合的偶联化学。可选地,在一个实施方案中,进行与抗体或部分的C末端偶联。蛋白(例如Fab片段)的C末端修饰可以如所述进行(Sunbul, M. 和 Yin, J., *Org. Biomol. Chem.* 7 (2009) 3361-3371)。

[0407] 通常,位点特异性反应和共价偶联基于将天然氨基酸转化为具有与存在的其他官能团的反应性正交的反应性的氨基酸。例如,稀有序列环境中的特定半胱氨酸可以在醛中酶促转化(参见Frese, M.A., 和 Dierks, T., *ChemBioChem.* 10 (2009) 425-427)。通过在给定的序列环境中利用某些酶与天然氨基酸的特异性酶促反应性,也可以获得所需的氨基酸修饰(参见,例如Taki, M. 等人, *Prot. Eng. Des. Sel.* 17 (2004) 119-126; Gautier, A. 等人 *Chem. Biol.* 15 (2008) 128-136; 以及由Bordusa, F., *Highlights in Bioorganic Chemistry* (2004) 389-403使用的C—N键的蛋白酶催化的形成)。通过末端氨基酸与适当的修饰试剂的选择性反应也可以实现位点特异性反应和共价偶联。

[0408] N-末端半胱氨酸与苯甲腈的反应性(参见Ren, H. 等人, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 48 (2009) 9658-9662)可用于实现位点特异性共价偶联。

[0409] 天然化学连接也可依赖于C-末端半胱氨酸残基(Taylor, E. Vogel; Imperiali, B., *Nucleic Acids and Molecular Biology* (2009), 22 (Protein Engineering), 65-96)。

[0410] US6437095 B1描述了一种缀合方法,其基于一段带负电荷的氨基酸内的半胱氨酸与位于一段带正电荷的氨基酸中的半胱氨酸的更快反应。

[0411] 该部分也可以是合成肽或肽模拟物。在化学合成多肽的情况下,可以在这种合成过程中掺入具有正交化学反应性的氨基酸(参见例如de Graaf, A.J. 等人, *Bioconjug. Chem.* 20 (2009) 1281-1295)。由于多种正交官能团处于关键(at stake)并且可以引入合成肽中,因此这种肽与接头的缀合是标准化学。

[0412] 为了获得单标记的多肽,可以通过色谱法从其他缀合副产物中分离具有1:1化学计量的缀合物。通过使用染料标记的结合对成员和带电接头可以促进该过程。通过使用这种标记的和高度带负电荷的结合对成员,单缀合多肽易于与未标记的多肽和携带多于一个接头的多肽分离,这是因为电荷和分子量的差异可用于分离。荧光染料可用于从未结合的组分如标记的单价粘合剂中纯化复合物。

[0413] 在一个实施方案中,与抗TIM3抗体连接的部分选自结合部分、标记部分和生物活性部分。

[0414] 本文所述的抗TIM3抗体还可以与治疗剂缀合以形成免疫缀合物,例如抗体-药物

缀合物(ADC)。合适的治疗剂包括抗代谢物、烷化剂、DNA小沟结合剂、DNA嵌入剂、DNA交联剂、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂、核输出抑制剂、蛋白酶体抑制剂、拓扑异构酶I或II抑制剂、热休克蛋白抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、抗生素和抗有丝分裂剂。在ADC中,抗体和治疗剂优选通过可切割的接头例如肽基、二硫化物或脰接头缀合。在其他实施方案中,接头是肽基接头,例如Val-Cit、Ala-Val、Val-Ala-Val、Lys-Lys、Pro-Val-Gly-Val-Val (SEQ ID NO: 300)、Ala-Asn-Val、Val-Leu-Lys、Ala-Ala-Asn、Cit-Cit、Val-Lys、Lys、Cit、Ser或Glu。可以如美国专利号7,087,600;6,989,452和7,129,261;PCT公开W0 02/096910;W0 07/038658;W0 07/051081;W0 07/059404;W0 08/083312和W0 08/103693;美国专利公开20060024317;20060004081和20060247295中所述制备ADC。

[0415] 抗TIM3抗体例如本文所述的那些,也可用于检测TIM3,例如人TIM3,例如组织或组织样品中的人TIM3。抗体可用于例如ELISA测定或流式细胞术。在某些实施方案中,使抗TIM3抗体与细胞(例如组织中的细胞)接触适合于发生特异性结合的时间,然后添加试剂,例如检测抗TIM3抗体的抗体。在实施例中提供了示例性测定。抗TIM3抗体可以是完全人抗体,或者它可以是嵌合抗体,例如具有人可变区和鼠恒定区或其部分的抗体。用于检测样品(细胞或组织样品)中的TIM3(例如人TIM3)的示例性方法包括(i)使样品与抗TIM3抗体接触足够的时间以允许抗TIM3抗体与样品中的TIM3特异性结合,和(2)使样品与特异性结合抗TIM3抗体(诸如结合抗TIM3抗体的Fc区)的检测试剂(例如抗体)接触,从而检测由抗TIM3抗体结合的TIM3。在与抗体和/或检测试剂孵育后,可以包括洗涤步骤。用于这些方法的抗TIM3抗体不必与标记或检测剂连接,因为可以使用单独的检测剂。

[0416] 抗TIM3抗体的其他用途,例如作为单一疗法或组合疗法,在本文其他地方提供,例如在与组合治疗有关的部分中。

[0417] XIV. 双特异性分子

本文所述的抗TIM3抗体可用于形成双特异性分子。抗TIM3抗体或其抗原结合部分可以衍生化或连接至另一功能分子,例如另一肽或蛋白(例如另一抗体或受体的配体)以产生结合至少两个不同结合位点或靶分子的双特异性分子。例如,抗TIM3抗体可以与抗体或scFv连接,所述抗体或scFv特异性结合可以用作组合治疗的潜在靶标的任何蛋白,例如本文所述的蛋白(例如针对PD-1、PD-L1、GITR或LAG-3的抗体)。本文所述的抗体可以实际上衍生化或连接至多于一种其他功能分子以产生结合多于两种不同结合位点和/或靶分子的双特异性分子;此类双特异性分子也旨在被如本文所用的术语“双特异性分子”所涵盖。为了产生本文所述的双特异性分子,本文所述的抗体可以功能性连接(例如通过化学偶联、基因融合、非共价连接或其他方式)至一种或多种其他结合分子,诸如另一抗体、抗体片段、肽或结合模拟物,从而产生双特异性分子。

[0418] 因此,本文提供包含至少对于TIM3的第一结合特异性和对于第二靶表位的第二结合特异性的双特异性分子。在其中双特异性分析是多特异性的本文所述的一个实施方案中,分子可以进一步包含第三结合特异性。

[0419] 在一个实施方案中,本文所述的双特异性分子包含至少一种抗体或其抗体片段作为结合特异性,包括例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或单链Fv(scFv)。抗体还可以是轻链或重链二聚体或其任何最小片段,诸如Fv或单链构建体,如描述于Ladner等人美国专利号4,946,778。

[0420] 尽管优选人单克隆抗体,但可用于本文所述的双特异性分子的其他抗体是鼠、嵌合和人源化单克隆抗体。

[0421] 本文所述的双特异性分子可以通过使用本领域已知的方法缀合成分结合特异性来制备。例如,双特异性分子的每一结合特异性可以单独产生并随后彼此缀合。当结合特异性为蛋白或肽时,多种偶联或交联剂可用于共价缀合。交联剂的实例包括蛋白A、碳二亚胺、N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰基-硫代乙酸酯(SATA)、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、邻亚苯基二马来酰亚胺(oPDM)、N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)和4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-甲酸磺基琥珀酰亚胺酯(磺基-SMCC)(参见例如Karpovsky等人(1984)J.Exp.Med.160:1686;Liu,MA等人(1985)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 82:8648)。其他方法包括描述于以下中的那些:Paulus(1985)Behring Ins.Mitt.No.78,118-132;Brennan等人(1985)Science 229:81-83)和Glennie等人(1987)J.Immunol.139:2367-2375)。一些缀合剂为SATA和磺基-SMCC,均可得自Pierce Chemical Co.(Rockford,IL)。

[0422] 当结合特异性为抗体时,它们经两条重链的C末端铰链区的巯基键合进行缀合。在具体的实施方案中,铰链区经修饰以在缀合前包含奇数数目的巯基残基,优选一个。

[0423] 可选地,两种结合特异性可以在相同的载体中编码并且在相同的宿主细胞中表达并装配。该方法尤其可用于双特异性分子为mAb x mAb、mAb x Fab、mAb x(scFv)₂、Fab x F(ab')₂或配体x Fab融合蛋白的情况。双特异性抗体可包括在每条重链的C末端包含scFv的抗体。本文所述的双特异性分子可以是包含一个单链抗体和结合决定簇的单链分子或包含两种结合决定簇的单链双特异性分子。双特异性分子可以包含至少两个单链分子。制备双特异性分子的方法描述于例如美国专利号5,260,203;美国专利号5,455,030;美国专利号4,881,175;美国专利号5,132,405;美国专利号5,091,513;美国专利号5,476,786;美国专利号5,013,653;美国专利号5,258,498;和美国专利号5,482,858。

[0424] 双特异性分子与其特定靶标的结合可以使用本领域公认的方法确认,例如酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、FACS分析、生物测定(例如,生长抑制)或蛋白质印迹测定。这些测定的每一种通常通过采用对于目标复合物特异性的经标记的试剂(例如抗体)来检测特定目标蛋白-抗体复合物的存在。

[0425] XV.组合物

还提供了组合物,例如药物组合物,其含有连同药学上可接受的载体一起配制的抗TIM3抗体中的一种或组合或其与本文所述的针对其他靶标的抗体或其抗原结合部分的组合。此类组合物可以包含(例如两种或多种不同)抗体或免疫缀合物或本文所述的双特异性分子的一种或组合。例如,本文所述的药物组合物可以包含结合靶抗原上的不同表位或者具有互补活性的抗体(或免疫缀合物或双特异性分子)的组合。

[0426] 在某些实施方案中,组合物包含抗TIM3抗体,浓度为至少1mg/ml、5mg/ml、10mg/ml、50mg/ml、100mg/ml、150mg/ml、200mg/ml、1-300mg/ml或100-300mg/ml。

[0427] 本文所述的药物组合物还可以以组合疗法即与其他药剂组合施用。例如,组合疗法可以包括组合有至少一种其他抗癌剂和/或免疫调节剂例如T细胞刺激(例如活化)剂的本文所述的抗TIM3抗体。可用于组合疗法中的治疗剂的实例更详细地描述于下文关于使用本文所述的抗TIM3抗体的部分中。

[0428] 在一些实施方案中,本文公开的治疗组合物可以包括用于治疗癌症的其他化合

物、药物和/或药剂。此类化合物、药物和/或药剂可以包括例如化疗药物、小分子药物或刺激对给定癌症的免疫应答的抗体。在一些情况下,治疗组合物可包含例如以下的一种或多种:抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗OX40(也称为CD134、TNFRSF4、ACT35和/或TXGP1L)抗体、抗CD137抗体、抗LAG-3抗体、抗GITR抗体或其任何组合。

[0429] 如本文所用,“药学上可接受的载体”包括任何和所有的溶剂、分散介质、涂料、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延迟剂等,其是生理学上相容的。在一些实施方案中,载体适合于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊椎或表皮施用(例如通过注射或输注)。取决于施用途径,活性化合物即抗体、免疫缀合物或双特异性分子可以包被在材料中以保护所述化合物免于酸和其他可能失活化合物的天然条件的作用。

[0430] 本文所述的药物化合物可以包括一种或多种药学上可接受的盐。“药学上可接受的盐”指保留母体化合物的期望的生物活性且不产生任何不想要的毒性作用的盐(参见例如Berge, S.M., 等人(1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19)。此类盐的实例包括酸加成盐和碱加成盐。酸加成盐包括衍生自无毒无机酸诸如盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、氢溴酸、氢碘酸、亚磷酸等的酸加成盐以及衍生自无毒有机酸诸如脂族一元和二元羧酸、苯基取代的链烷酸、羟基链烷酸、芳族酸、脂族磺酸和芳族磺酸等的酸加成盐。碱加成盐包括衍生自碱土金属诸如钠、钾、镁、钙等的碱加成盐以及衍生自无毒有机胺诸如N,N'-二苄基乙二胺、N-甲基葡糖胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、普鲁卡因等的碱加成盐。

[0431] 本文所述的药物组合物还可以包含药学上可接受的抗氧化剂。药学上可接受的抗氧化剂的实例包括:(1) 水溶性抗氧化剂,如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等;(2) 油溶性抗氧化剂,如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基羟基茴香醚(BHA)、丁基羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等;和(3) 金属螯合剂,如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

[0432] 可用于本文所述的药物组合物的合适的含水和非含水载体的实例包括水、乙醇、多元醇(诸如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)及其合适的混合物,植物油诸如橄榄油和可注射有机酯诸如油酸乙酯。可以例如通过使用涂覆材料诸如卵磷脂,通过在分散剂的情况下维持期望的颗粒大小和通过使用表面活性剂,维持适当的流动性。

[0433] 这些组合物也可含有佐剂,诸如防腐剂、湿润剂、乳化剂及分散剂。可以如下确保防止微生物的存在:通过如上的消毒程序,和通过包括不同的抗菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、三氯叔丁醇、苯酚、山梨酸等。也可希望将等渗剂(如糖、氯化钠等)包含入组合物中。另外,可注射药物形式的延长吸收可以通过包括延迟吸收的试剂例如单硬脂酸铝和明胶来达到。

[0434] 药学上可接受的载体包括无菌水溶液或分散液以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。使用此类介质和试剂用于药学上有活性的物质是本领域已知的。除了与活性化合物不相容的任何常规介质或试剂范围之外,其在本文所述的药物组合物中的使用均被考虑。药物组合物可包含防腐剂或可不含防腐剂。还可以将补充性活性化合物掺入组合物中。

[0435] 治疗组合物通常必须是无菌的且在制造和储存的条件下是稳定的。组合物可以配制为溶液、微乳液、脂质体或其他适合于高药物浓度的有序结构。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、和液体聚乙二醇等)及其合适的混合物的溶剂或分散介

质。可以例如通过使用涂料诸如卵磷脂,通过在分散的情况下维持期望的颗粒大小和通过使用表面活性剂,维持适当的流动性。在许多情况下,组合物可以包含等渗剂,例如组合物中的蔗糖、多元醇诸如甘露醇、山梨醇、或氯化钠。可以通过在组合物中包括延迟吸收的试剂(例如,单硬脂酸盐和明胶)来实现可注射组合物的延长吸收。

[0436] 无菌的可注射溶液可以通过将活性化合物以需要的量掺入具有上文列举的成分的一种或其组合的合适的溶剂中(如需要,随后为灭菌微滤)来制备。通常,通过将活性化合物掺入含有基础分散介质和来自本文列举的那些的所需其他成分的无菌媒介物中来制备分散体。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,一些制备方法是真空干燥和冷冻干燥(冻干),其产生来自其先前无菌过滤溶液的活性成分加上任何另外的所需成分的粉末。

[0437] 可与载体物质组合以产生单一剂型的活性组分的量将取决于所治疗主体和具体施用模式而不同。可以与载体物质组合以产生单一剂型的活性成分的量通常为产生治疗学效果的化合物的量。通常,在百分之百中,该量范围为约0.01%至约99%的活性成分、约0.1%至约70%、或约1%至约30%的活性成分与药学上可接受的载体的组合。

[0438] 给药方案进行调整以提供最佳的期望应答(例如,治疗性应答)。例如,可以施用单次大剂量,可以随时间施用几个分开的剂量,或者可以如治疗情况的紧急性所示按比例减少或增加剂量。为了容易施用和剂量的一致性,尤其有利的是以剂量单位形式配制肠胃外组合物。如本文所用的剂量单位形式指适合作为用于待治疗的主体的单一剂量的物理上分离的单位(physically discrete units);每一单位含有经计算产生期望的治疗效果的预定量的活性化合物和必需的药物载体。对本文所述的剂量单位形式的规格由(a)活性化合物的独特特征和待实现的具体治疗效果以及(b)在针对个体的治疗敏感性调配此类活性化合物的领域中固有的限制所指明且直接取决于它们。

[0439] 对于例如本文所述的抗TIM3抗体的施用,剂量范围为约0.0001至100mg/kg、且更通常为0.01至5或10mg/kg的宿主体重。例如,剂量可以为0.3mg/kg体重、1mg/kg体重、3mg/kg体重、5mg/kg体重或10mg/kg体重或在1-10mg/kg的范围内。示例性治疗方案包括每周施用一次、每两周施用一次、每三周施用一次、每四周施用一次、每月一次、每3个月一次或每3-6个月一次。本文所述的抗TIM3抗体的示例性剂量方案包括通过静脉内施用的1mg/kg体重或3mg/kg体重,且使用以下给药时间表之一给予抗体:(i)每四周给药六次剂量,然后每三个月;(ii)每三周;(iii)3mg/kg体重一次,然后为每3周1mg/kg体重。

[0440] 抗TIM3抗体可以以统一剂量(统一剂量方案)施用。在其他实施方案中,抗TIM3抗体可以以固定剂量与另一种抗体一起施用。在某些实施方案中,抗TIM3抗体以基于体重的剂量施用。

[0441] 在一些方法中,具有不同结合特异性的两种或多种单克隆抗体同时施用,在这种情况下施用的每一抗体的剂量落入所示范围内。抗体通常在多次时机施用。单一剂量之间的间隔例如可以是每周、每月、每三个月或每年。间隔也可以是不规律的,如测量患者中针对靶抗原的抗体的血液水平所示。在一些方法中,调节剂量以实现约1-1000 μ g/ml且在一些方法中约25-300 μ g/ml的血浆抗体浓度。

[0442] 可以在另一种抗体的给药方案下将抗TIM3抗体与另一种抗体一起施用。例如,抗TIM3抗体可以与抗PD-1抗体如纳武单抗(OPDIVO[®])每两周作为经60分钟的i.v.输注一起

施用,直至疾病进展或不可接受的毒性发生。抗TIM3抗体可以与派姆单抗(KEYTRUDA®)每3周经30分钟的i.v.输注一起施用,直至疾病进展或不可接受的毒性发生。抗TIM3抗体可以与阿特朱单抗(TECENTRIQ™)每3周经60或30分钟的i.v.输注一起施用,直至疾病进展或不可接受的毒性发生。

[0443] 抗体可以作为缓释制剂施用,在这种情况下需要较低频率施用。剂量和频率取决于抗体在患者中的半衰期而不同。通常,人抗体显示最长的半衰期,随后为人源化抗体、嵌合抗体和非人抗体。施用的剂量和频率可以取决于治疗为预防性或治疗性的而不同。在预防性应用中,在长时期以相对稀少的间隔施用相对低剂量。一些患者持续接受治疗,持续其一生。在治疗性应用中,有时需要相对短时间间隔的相对高剂量,直到疾病进程减少或终止,且直到患者显示疾病症状的部分或完全改善。其后,可以向患者施用预防性方案。

[0444] 本文所述的药物组合物中的活性成分的实际剂量水平可以改变,从而获得这样的活性成分的量,其有效地实现对特定患者、组合物和施用模式而言的期望的治疗应答,而无对患者的毒性。所选的剂量水平将取决于多种药代动力学因素,包括所用的本文所述的具体组合物的活性、其酯、盐或酰胺、施用途径、施用时间、所用的具体化合物的排泄速率、治疗持续时间、其他药物、与所用的具体组合物组合使用的化合物和/或材料,被治疗的患者的年龄、性别、体重、病况和一般健康和早期医疗史,和医疗领域熟知的类似因素。

[0445] 本文所述的抗TIM3抗体的“治疗有效剂量”可以导致疾病症状严重性的降低、无疾病症状时期的频率和持续时间增加或防止由于疾病折磨所致的伤残或残疾。在癌症的情况下,治疗有效剂量可以导致存活例如总体存活增加和/或预防与癌症相关的身体症状的进一步恶化。癌症症状在本领域中是众所周知的,并且包括例如不正常的痣特征,包括不对称性、边界、颜色和/或直径在内的痣外观的改变,新染色的皮肤区域、异常的痣、指甲下的变黑区域、乳房肿块、乳头变化、乳房囊肿、乳房疼痛、死亡、体重减轻、无力、过度疲劳、进食困难、食欲不振、慢性咳嗽、呼吸困难加重、咳血、尿血、便血、恶心、呕吐、肝转移、肺转移、骨转移、腹部饱胀感、腹胀、腹腔积液、阴道出血、便秘、腹部膨大、结肠穿孔、急性腹膜炎(感染、发热、疼痛)、疼痛、吐血、大量出汗、发热、高血压、贫血、腹泻、黄疸、头晕、寒战、肌肉痉挛、结肠转移、肺转移、膀胱转移、肝转移、骨转移、肾转移和胰腺转移、吞咽困难等。

[0446] 治疗有效剂量可以防止或延迟癌症发生,诸如可以在出现疾病的早期或初步体征时期望。用于癌症诊断的实验室测试包括化学(包括TIM3水平的测量)、血液学、血清学和放射学。因此,监测前述任一者的任何临床或生物化学测定可以用于确定特定治疗是否是治疗癌症的治疗有效剂量。本领域普通技术人员将能够基于此类因素诸如主体大小、主体症状的严重程度和具体组合物或所选施用途径来确定此类量。

[0447] 本文所述的组合物可以使用本领域已知的多种方法的一种或多种经一种或多种施用途径来施用。如本领域技术人员将理解的,施用途径和/或模式将根据期望的结果而不同。用于本文所述的抗TIM3抗体的施用途径可以包括静脉内、肌内、皮内、腹膜内、皮下、脊椎或其他肠胃外施用途径,例如,通过注射或输注。如本文所用的短语“肠胃外施用”意指除肠内和局部施用外的施用模式,通常通过注射,并且包括但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外和胸骨内注射和输注。

[0448] 可选地,本文所述的抗体可以潜在地经非肠胃外途径使用,诸如施用的局部、表皮

或粘膜途径,例如,鼻内、经口、阴道、直肠、舌下或局部地。

[0449] 活性化合物可以与载体一同制备,所述载体将保护化合物免于快速释放,诸如受控释放制剂,包括植入物、透皮贴剂和微囊化的递送系统。可以使用生物可降解的、生物相容的聚合物,诸如乙烯醋酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯、和聚乳酸。许多用于此类制剂制备的方法是获专利的或本领域技术人员通常已知的。参见例如Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, 编辑, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

[0450] 治疗组合物可以用本领域已知的医疗装置施用。例如,在具体的实施方案中,本文所述的治疗组合物可以用无针皮下注射装置施用,诸如公开于以下中的装置:美国专利号5,399,163;5,383,851;5,312,335;5,064,413;4,941,880;4,790,824;或4,596,556。用于本文所述的抗TIM3抗体的众所周知的植入物和模块的实例包括:美国专利号4,487,603,其公开以控制速率分配药物的可植入微输注泵;美国专利号4,486,194,其公开用于经皮肤施用药物的治疗装置;美国专利号4,447,233,其公开以精确输注速率递送药物的药物输注泵;美国专利号4,447,224,其公开用于持续药物递送的变速流可植入输注设备;美国专利号4,439,196,其公开具有多室隔室的渗透药物递送系统;和美国专利号4,475,196,其公开渗透药物递送系统。这些专利通过引用并入本文。许多其他此类植入物、递送系统和模块是本领域技术人员已知的。

[0451] 在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体可以配制以确保体内合适分配。例如,血脑屏障(BBB)排除许多高亲水性化合物。为了确保本文所述的治疗化合物穿过BBB(如需要的话,例如对于脑癌),它们可以例如配制在脂质体中。对于制备脂质体的方法,参见例如美国专利号4,522,811;5,374,548;和5,399,331。脂质体可以包含选择性转运入特定细胞或器官因而增强靶向药物递送的一种或多种部分(参见例如V.V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685)。示例性靶向部分包括叶酸或生物素(参见例如Low等人的美国专利5,416,016);甘露糖苷(Umezawa等人, (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038);抗体(P.G. Bloeman等人(1995) FEBS Lett. 357:140;M. Owais等人(1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180);表面活性蛋白A受体(Briscoe等人(1995) Am. J. Physiol. 1233:134);p120(Schreier等人(1994) J. Biol. Chem. 269:9090);还参见K. Keinanen;M.L. Laukkanen(1994) FEBS Lett. 346:123;J.J. Killian;I.J. Fidler(1994) Immunomethods 4:273。

[0452] XVI. 用途和方法

本文所述的抗体、抗体组合物和方法具有许多体外和体内效用,包括例如增强免疫应答,例如通过抑制(或拮抗)TIM3(例如信号传导)或检测TIM3。在一个实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体是人抗体。例如,本文所述的抗TIM3可以施用于培养中的细胞(体外或离体),或者施用于人主体(例如体内)以增强多种疾病中的免疫。因此,本文提供改变主体中的免疫应答的方法,其包括向主体施用本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合部分,使得主体中的免疫应答改变。在一些实施方案中,应答被增强、刺激或上调。

[0453] 适用于本方法的主体包括需要增强免疫应答的人患者。该方法特别适用于治疗患有可通过增强免疫应答(例如T细胞介导的免疫应答,例如抗原特异性T细胞应答)治疗的病症的人患者。在具体的实施方案中,方法特别适合于体内治疗癌症。为了实现抗原特异性免

疫增强,本文所述的抗TIM3抗体可以与目标抗原一同施用,或者抗原可以已经存在于待治疗的主体(例如,携带肿瘤或携带病毒的主体)中。当针对TIM3的抗体与另一药剂一同施用时,这两者可以分开或同时施用。

[0454] 还涵盖的是用于检测样品中存在人TIM3抗原或测量人TIM3抗原的量的方法,其包括在允许所述抗体或其部分与人TIM3之间形成复合物的条件下,将样品和对照样品与特异性结合人TIM3的单克隆抗体例如人单克隆抗体或其抗原结合部分接触。随后检测复合物的形成,其中样品相比于对照样品之间复合物形成差别表明样品中存在人TIM3抗原。此外,本文所述的抗TIM3抗体可以用于经免疫亲和纯化来纯化人TIM3。

[0455] 考虑到本文所述的抗TIM3抗体刺激或共刺激T细胞应答例如抗原特异性T细胞应答(诸如通过抑制TIM3的负作用)的能力,本文提供使用本文所述的抗TIM3抗体刺激、增强或上调抗原特异性T细胞应答例如抗肿瘤T细胞应答的体外和体内方法。在某些实施方案中,还提供CD3刺激(例如通过与表达膜CD3的细胞共孵育),该刺激可以在用抗TIM3抗体刺激的同时、之前或之后提供。例如,本文提供了刺激抗原特异性T细胞应答的方法,其包括使所述T细胞与本文所述的抗TIM3抗体接触,并任选地与抗CD3抗体接触,从而刺激抗原特异性T细胞应答。

[0456] 抗原特异性T细胞应答的任何合适的指示物可用于测量抗原特异性T细胞应答。此类合适指示物的非限制性实例包括在抗体存在下增加的T细胞增殖和/或在抗体存在下增加细胞因子产生。在一些实施方案中,刺激由抗原特异性T细胞产生白细胞介素-2和/或干扰素- γ 。

[0457] 可以用抗TIM3抗体增强或共刺激的T细胞包括CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞。T细胞可以是Teff细胞,例如CD4⁺ Teff细胞、CD8⁺ Teff细胞、T辅助(Th)细胞(例如Th1细胞)或T细胞毒性(Tc)细胞。

[0458] 进一步涵盖刺激主体中免疫应答(例如抗原特异性T细胞应答)的方法,其包括向主体施用本文所述的抗TIM3抗体,使得主体中的免疫应答(例如抗原特异性T细胞应答)得到刺激。在一些实施方案中,主体为携带肿瘤的主体并且针对肿瘤的免疫应答得到刺激。肿瘤可以是实体瘤或液体瘤,例如恶性血液肿瘤。在某些实施方案中,肿瘤是免疫原性肿瘤。在某些实施方案中,肿瘤是非免疫原性的。在某些实施方案中,肿瘤是PD-L1阳性的。在某些实施方案中,肿瘤是PD-L1阴性的。主体还可以是携带病毒的主体并且针对病毒的免疫应答得到刺激。

[0459] 进一步提供用于抑制主体中的肿瘤细胞生长的方法,其包括向主体施用本文所述的抗TIM3抗体,使得主体中肿瘤生长得到抑制。还提供用于治疗主体中的病毒感染的方法,其包括向主体施用本文所述的抗TIM3抗体,使得主体中的病毒感染得到治疗。

[0460] 在某些实施方案中,将抗TIM3抗体作为辅助疗法给予主体。用抗TIM3抗体治疗患有癌症的主体可以导致延长的存活期,例如相对于当前护理标准的长期持久应答;长期存活至少3个月、6个月、9个月、1年、2年、3年、4年、5年、10年或更久,或无复发生存期为至少3个月、6个月、9个月、1年、2年、3年、4年、5年、10年或更久。在某些实施方案中,用抗TIM3抗体治疗具有癌症的主体防止癌症复发或延迟癌症复发例如3个月、6个月、9个月、1年、2年、3年、4年、5年、10年或更久。抗TIM3治疗可用作一线、二线或三线治疗。

[0461] 用本文所述的抗TIM3抗体(例如TIM3.18.IgG1)治疗患有癌症的主体可导致例如

稳定的疾病、部分应答、增加的总体存活、增加的无病存活或增强的无进展存活。

[0462] 在某些实施方案中,本文所述的抗TIM3抗体没有显著毒性。例如,TIM3抗体对人的器官(例如肝、肾、脑、肺和心脏中的一种或多种)没有显著毒性,如例如在临床试验中测定的。在某些实施方案中,TIM3抗体不会显著引发不期望的免疫应答,例如自身免疫或炎症。

[0463] 在某些实施方案中,用抗TIM3拮抗剂(例如本文所述的抗TIM3抗体)治疗主体不会导致免疫系统过度刺激至主体的免疫系统随后攻击主体本身(例如自身免疫应答)或导致例如过敏反应的程度。因此,在一些实施方案中,抗TIM3抗体不引起过敏反应。

[0464] 在某些实施方案中,用本文所述的抗TIM3抗体(例如包含13A3的CDR或可变区或其变体的抗体(例如如本文所述的)或本文所述的其他抗TIM3抗体)治疗主体不引起显著的炎症反应,例如免疫介导的肺炎、免疫介导的结肠炎、免疫介导的肝炎、免疫介导的肾炎或肾功能障碍、免疫介导的垂体炎、免疫介导的甲状腺功能减退和甲状腺功能亢进症或其他免疫介导的不良反应。在某些实施方案中,包含13A3的CDR或可变区或其变体的抗TIM3抗体(例如如本文所述的)引起与其他抗TIM3抗体相比更少的炎症反应,例如免疫介导的肺炎、免疫介导的结肠炎、免疫介导的肝炎、免疫介导的肾炎或肾功能障碍、免疫介导的垂体炎、免疫介导的甲状腺功能减退和甲状腺功能亢进症、过敏反应或其他免疫介导的不良反应。在某些实施方案中,用本文所述的抗TIM3抗体(例如包含13A3的CDR或可变区或其变体的抗体(例如如本文所述的)或本文所述的其他抗TIM3抗体)治疗主体不会导致严重的心脏病症例如室性心律失常;眼部疾病例如虹膜睫状体炎;输液相关反应;淀粉酶增加、脂肪酶增加;神经系统病症,例如头晕、外周和感觉神经病;皮肤和皮下组织病症,例如皮疹、瘙痒、剥脱性皮炎、多形性红斑、白癜风或牛皮癣;呼吸、胸腔和纵隔病症,例如咳嗽;疲劳;恶心;食欲下降;便秘;关节痛;或腹泻。

[0465] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体与另一种癌症疗法组合提供协同抗肿瘤作用,所述癌症疗法例如刺激免疫系统的化合物(例如免疫肿瘤学试剂),例如本文所述的化合物或调节本文所述靶标的化合物。

[0466] 与嵌合或人源化抗体相反,使用人抗体可导致较低水平的抗药物抗体(ADA)。因此,本文所述的人抗TIM3抗体(例如TIM3.18.IgG1.3)相对于不是人抗体的抗TIM3抗体(例如,相对于人源化或嵌合抗TIM3抗体)可具有更低的ADA。

[0467] 这些和其他本文所述的方法在下文进一步详细讨论。

[0468] XVI.A.癌症由抗TIM3抗体对TIM3的抑制可以增强患有癌症的患者中对癌细胞的免疫应答。本文提供治疗患有癌症的主体的方法,其包括向主体施用本文所述的抗TIM3抗体,使得主体得到治疗,例如,使得癌性肿瘤的生长受到抑制或降低和/或肿瘤消退和/或实现延长的存活。抗TIM3抗体可以单独使用以抑制癌性肿瘤的生长。可选地,抗TIM3抗体可以与另一药剂联合使用,例如,另一种免疫原性剂、标准癌症治疗或另一种抗体,如下文所述。

[0469] 因此,本文提供了在主体中例如通过抑制肿瘤细胞生长来治疗癌症的方法,其包括向主体施用治疗有效量的本文所述的抗TIM3抗体,例如具有野生型IgG恒定区或具有降低的效应子功能的恒定区(例如IgG1.1或IgG1.3)的TIM3.2、TIM3.4、TIM3.5、TIM3.6、9F6、8B9、TIM3.9、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17、TIM3.18、TIM3.7和TIM3.8或其抗原结合部分。抗体可以是人抗TIM3抗体(例如本文所述的任何人抗人TIM3抗体)。可以使用本公开内容的抗体抑制其生长的癌症包括通常对免疫疗

法有反应的癌症和通常对免疫疗法无反应的癌症。可以治疗的癌症还包括TIM3阳性癌症。癌症可以是具有实体瘤或血液恶性肿瘤(液体肿瘤)的癌症。用于治疗的癌症的非限制性实例包括鳞状细胞癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、鳞状非小细胞肺癌(NSCLC)、非鳞状NSCLC、神经胶质瘤、胃肠癌、肾癌(例如透明细胞癌)、卵巢癌、肝癌、结肠直肠癌、子宫内膜癌、肾癌(例如肾细胞癌(RCC))、前列腺癌(例如激素难治性前列腺癌)、甲状腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、成胶质细胞瘤(多形性成胶质细胞瘤)、子宫颈癌、胃癌、膀胱癌、肝癌、乳腺癌、结肠癌和头颈癌(或恶性肿瘤)、胃癌、生殖细胞肿瘤、小儿肉瘤、鼻窦天然杀伤细胞、黑素瘤(例如转移性恶性黑色素瘤,例如皮肤或眼内恶性黑色素瘤)、骨癌、皮肤癌、子宫癌、肛区癌、睾丸癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、食管癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童实体瘤、输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊柱轴肿瘤(spinal axis tumor)、脑癌、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、卡波西肉瘤、表皮癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症包括由石棉诱导的那些、病毒相关癌症或病毒起源的癌症(例如,人乳头瘤病毒(HPV)相关的或起源的肿瘤)、和源自两种主要血细胞谱系即骨髓细胞系(其产生粒细胞、红细胞、血小板、巨噬细胞和肥大细胞)或淋巴细胞系(其产生B、T、NK和浆细胞)中的任一种的血液恶性肿瘤、诸如所有类型的白血病、淋巴瘤和骨髓瘤、例如急性、慢性、淋巴细胞和/骨髓性白血病,诸如急性白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)和慢性骨髓性白血病(CML)、未分化的AML(M0)、成髓细胞性白血病(M1)、成髓细胞性白血病(M2;具有细胞成熟)、前髓细胞性白血病(M3或M3变体[M3V])、骨髓单核细胞白血病(M4或具有嗜酸性粒细胞增多的M4变体[M4E])、单核细胞白血病(M5)、红白血病(M6)、巨核细胞白血病(M7)、分离的粒细胞肉瘤和绿色瘤;淋巴瘤如霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)、B细胞血液恶性肿瘤例如B细胞淋巴瘤、T细胞淋巴瘤、淋巴浆细胞样淋巴瘤、单核细胞样B细胞淋巴瘤、粘膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、间变性(例如Ki 1+)大细胞淋巴瘤、成人T细胞淋巴瘤/白血病、套细胞淋巴瘤、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤、肠T细胞淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤、前体T淋巴母细胞性淋巴瘤、T-淋巴母细胞;和淋巴瘤/白血病(T-Lbly/T-ALL)、外周T细胞淋巴瘤、淋巴母细胞性淋巴瘤、移植后淋巴增生性障碍、真性组织细胞性淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、B细胞淋巴瘤、淋巴母细胞性淋巴瘤(LBL)、淋巴谱系的血液肿瘤、急性成淋巴细胞性白血病、弥漫性大B细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、弥漫性组织细胞性淋巴瘤(DHL)、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞性淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤(CTLC)(也称为蕈样霉菌病或塞扎里综合征)和具有华氏巨球蛋白血症的淋巴浆细胞样淋巴瘤(LPL);骨髓瘤,例如IgG骨髓瘤、轻链骨髓瘤、非分泌性骨髓瘤、冒烟型骨髓瘤(也称为惰性骨髓瘤)、孤立性浆细胞瘤和多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、毛细胞淋巴瘤;骨髓谱系的造血肿瘤、间充质来源的肿瘤包括纤维肉瘤和横纹肌肉瘤;精原细胞瘤、畸胎瘤、中枢和外周神经肿瘤包括星形细胞瘤、神经鞘瘤;间充质来源的肿瘤包括纤维肉瘤、横纹肌肉瘤和骨肉瘤;和其他肿瘤包括黑素瘤、色素性干皮病、角化棘皮瘤、精原细胞瘤、甲状腺滤泡癌和畸胎瘤、淋巴谱系造血肿瘤例如T细胞和B细胞肿瘤,包括但不限于T细胞病症诸如T幼淋巴细胞白血病(T-PLL)、包括小细胞和脑形细胞型;T细胞型的大颗粒淋巴细胞白血病(LGL);a/d T-NHL肝脾淋巴瘤;外周/胸腺后T细胞淋巴瘤(多形性和免疫母细胞性亚型);

血管中心性(鼻)T细胞淋巴瘤;头颈癌、肾癌、直肠癌、甲状腺癌;急性骨髓性淋巴瘤、以及所述癌症的任何组合。本文所述的方法也可以用于治疗转移性癌症、无法切除的癌症、难治性癌症(例如,对于之前免疫疗法例如用阻断性CTLA-4或PD-1抗体难治的癌症)和/或复发性癌症。

[0470] 在某些实施方案中,将抗TIM3抗体施用于患有对先前治疗(例如用免疫肿瘤学或免疫疗法药物的先前治疗)表现出不充分应答或对所述先前治疗进展的癌症的患者,或患有难治性或抵抗性、内在难治性或抵抗性(例如对PD-1途径拮抗剂而言是难治的)或其中所述抵抗或难治状态是获得性的癌症的患者。例如,对第一疗法没有应答或没有足够应答或在治疗(例如抗PD-1治疗)后看到疾病进展的主体可以通过单独施用抗TIM3抗体或与另一种疗法(例如与抗PD-1疗法)组合施用抗TIM3抗体来治疗。

[0471] 在某些实施方案中,将抗TIM3抗体施用于之前未接受(即已经用其治疗)免疫肿瘤学药剂(例如PD-1途径拮抗剂)的患者。

[0472] 在某些实施方案中,治疗主体中的癌症的方法包括首先确定主体是否是TIM3阳性的,例如是否具有表达TIM3的肿瘤细胞或TIL,并且如果主体具有TIM3阳性癌症或TIL细胞,则向患者施用例如本文所述的抗TIM3抗体。用抗TIM3抗体治疗患有癌症的主体者的方法可以包括向具有表达TIM3的癌细胞或TIL细胞的主体施用治疗有效量的TIM3抗体。本文还提供了用于预测主体是否对用抗TIM3抗体治疗应答的方法,其中所述方法包括确定患者的癌症或TIL细胞中TIM3的水平,以及主体的癌症或TIL细胞是否为TIM3阳性,然后主体可能对用TIM3抗体治疗响应。

[0473] 在某些实施方案中,治疗主体中的癌症的方法包括首先确定主体是否是PD-L1或PD-1阳性的,例如是否具有表达PD-L1或PD-1的肿瘤细胞或TIL,并且如果主体具有PD-L1或PD-1阳性癌症或TIL细胞,则向主体施用例如本文所述的抗TIM3抗体(和任选PD-1或PD-L1拮抗剂)。用抗TIM3抗体(和任选PD-1或PD-L1拮抗剂)治疗患有癌症的主体的方法可以包括向具有表达PD-L1或PD-1的癌细胞或TIL细胞的主体施用治疗有效量的TIM3抗体(和任选PD-1或PD-L1拮抗剂)。本文还提供了用于预测主体是否对用抗TIM3抗体(和任选PD-1或PD-L1拮抗剂)治疗应答的方法,其中所述方法包括测定患者的癌症或TIL细胞中PD-L1或PD-1的水平,且如果主体的癌症或TIL细胞是PD-L1或PD-1阳性的,则主体可能对用TIM3抗体(和任选PD-1或PD-L1拮抗剂)治疗应答。

[0474] 抗TIM3抗体可以与标准护理治疗一起施用。抗TIM3抗体可以作为维持疗法,例如旨在预防肿瘤发生或复发的疗法施用。

[0475] 抗TIM3抗体可以与另一种治疗例如放射、手术或化学疗法一起施用。例如,当存在可能存在微转移的风险时和/或为了降低复发的风险,可以施用抗TIM3抗体辅助疗法。

[0476] 抗TIM3抗体可以作为单一疗法施用,或作为唯一的免疫刺激疗法施用。针对TIM3的抗体例如抗TIM3也可以与免疫原性剂例如癌细胞、纯化的肿瘤抗原(包括重组蛋白、肽和碳水化合物分子)、细胞和用编码免疫刺激细胞因子的基因转染的细胞组合(He等人,(2004)J. Immunol. 173:4919-28)。可以使用的肿瘤疫苗的非限制性实例包括黑素瘤抗原的肽,诸如gp100的肽、MAGE抗原、Trp-2、MART1和/或酪氨酸酶、或经转染以表达细胞因子GM-CSF的肿瘤细胞(下文进一步讨论)。

[0477] 在人中,已经显示一些肿瘤具有免疫原性,例如黑素瘤。通过经TIM3抑制降低T细

胞活化的阈值,可活化宿主中的肿瘤应答,从而允许治疗非免疫原性肿瘤或具有有限免疫原性的肿瘤。

[0478] 抗TIM3抗体例如本文所述的抗TIM3抗体,可以与接种方案组合。已经设计了用于针对肿瘤接种的许多实验策略(参见Rosenberg,S.,2000,Development of Cancer Vaccines,ASCO Educational Book Spring:60-62;Logothetis,C,2000,ASCO Educational Book Spring:300-302;Khayat,D.2000,ASCO Educational Book Spring:414-428;Foon,K.2000,ASCO Educational Book Spring:730-738;还参见Restifo,N.和Sznol,M.,Cancer Vaccines,Ch.61,pp.3023-3043于DeVita等人(编辑),1997,Cancer:Principles and Practice of Oncology,第五版)。在这些策略之一中,使用自体或同种异体肿瘤细胞制备疫苗。这些细胞疫苗已显示当肿瘤转导以表达GM-CSF时最有效。GM-CSF已显示为用于肿瘤接种的抗原呈递的有效活化物(Dranoff等人(1993)Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A.90:3539-43)。

[0479] 在各种肿瘤中基因表达和大规模基因表达模式的研究已导致定义所谓的肿瘤特异性抗原(Rosenberg,S A(1999)Immunity 10:281-7)。在许多情况下,这些肿瘤特异性抗原表达于肿瘤中和肿瘤产生的细胞中的分化抗原,例如黑素细胞gp100、MAGE抗原和Trp-2。更重要的是,许多这些抗原可以显示为宿主中发现的肿瘤特异性T细胞的靶标。TIM3抑制可以与许多表达于肿瘤中的重组蛋白和/或肽联合使用,以产生针对这些蛋白的免疫应答。这些蛋白通常被免疫系统视为自体抗原,因而对其耐受。肿瘤抗原可以包括蛋白端粒酶,其对于染色体端粒合成是必需的并且表达于超过85%的人癌症中和仅有限数目的体细胞组织中(Kim等人(1994)Science 266:2011-2013)。肿瘤抗原也可以是由于改变蛋白序列或产生不相关序列之间的融合蛋白(即费城染色体中的bcr-abl)的体细胞突变而表达于癌细胞中的“新抗原(neo-antigen)”或来自B细胞肿瘤的独特型。

[0480] 其他肿瘤疫苗可以包括来自涉及人癌症中的病毒的蛋白,所述病毒诸如人乳头瘤病毒(HPV)、肝炎病毒(HBV和HCV)和卡波西氏疱疹肉瘤病毒(KHSV)。可以与TIM3抑制联合使用的另一形式的肿瘤特异性抗原是分离自肿瘤组织自身的纯化的热休克蛋白(HSP)。这些热休克蛋白包含来自肿瘤细胞的蛋白的片段并且这些HSP在递送至抗原呈递细胞以引起肿瘤免疫中是高度有效的(Suot&Srivastava(1995)Science 269:1585-1588;Tamura等人(1997)Science 278:117-120)。

[0481] 树突细胞(DC)是可用于引发抗原特异性应答的有效抗原呈递细胞。DC可以离体产生并且用各种蛋白和肽抗原以及肿瘤细胞提取物装载(Nestle等人(1998)Nature Medicine 4:328-332)。DC还可以通过基因方法转导以还表达这些肿瘤抗原。DC也可以直接与肿瘤细胞融合用于免疫目的(Kugler等人(2000)Nature Medicine 6:332-336)。作为接种方法,DC免疫可以与TIM3抑制有效组合以活化更有效的抗肿瘤应答。

[0482] TIM3抑制也可以与标准癌症治疗(例如,手术、放射和化疗)组合。TIM3抑制可以与化学治疗方案有效地组合。在这些情况下,可能可以减少施用的化疗试剂的剂量(Mokyr等人(1998)Cancer Research 58:5301-5304)。此类组合的实例是抗TIM3抗体和氮烯咪胺的组合用于治疗黑素瘤。此类组合的另一实例是抗TIM3抗体和白细胞介素-2(IL-2)的组合用于治疗黑素瘤。TIM3抑制和化疗的组合使用背后的科学原理是细胞死亡(这是大部分化疗化合物的细胞毒性作用的结果)应导致抗原呈递途径中肿瘤抗原水平增加。其他可经细胞

死亡导致与TIM3抑制的协同作用的组合疗法是放射、手术和激素剥夺。这些方案中的每种产生宿主中的肿瘤抗原的来源。血管发生抑制剂也可以与TIM3抑制组合。抑制血管发生导致肿瘤细胞死亡,其可以将肿瘤抗原供给至宿主抗原呈递途径中。

[0483] 本文所述的抗TIM3抗体也可以与将表达Fc α 或Fc γ 受体的效应细胞靶向肿瘤细胞的双特异性抗体组合使用(参见例如美国专利号5,922,845和5,837,243)。双特异性抗体可以用于靶向两种单独的抗原。例如,抗Fc受体/抗肿瘤抗原(例如Her-2/neu)双特异性抗体已经用于将巨噬细胞靶向肿瘤部位。该靶向可以更有效地活化肿瘤特异性应答。这些应答的T细胞臂将通过TIM3的抑制而增加。可选地,抗原可以直接递送至DC,其通过结合肿瘤抗原和树突细胞特异性细胞表面标记物的双特异性抗体。

[0484] 肿瘤通过许多种机制逃避宿主免疫监视。许多这些机制可以通过由肿瘤表达并且是免疫抑制性的蛋白的失活来克服。这些尤其包括TGF- β (Kehrl等人(1986) J.Exp.Med. 163:1037-1050)、IL-10 (Howard&O'Garra (1992) Immunology Today 13:198-200) 和Fas配体 (Hahne等人(1996) Science 274:1363-1365)。针对这些实体的每一种的抗体可以与抗TIM3抗体组合使用以抵消免疫抑制剂的作用并促进宿主的肿瘤免疫应答。

[0485] 活化宿主免疫应答的其他抗体可以与抗TIM3抗体组合使用。这些包括树突细胞表面上活化DC功能和抗原呈递的分子。抗CD40抗体能够有效代替T细胞辅助活性(Ridge等人(1998) Nature 393:474-478)并且可以与抗TIM3抗体联合使用。针对T细胞共刺激分子诸如CTLA-4 (例如美国专利号5,811,097)、OX-40 (Weinberg等人(2000) Immunol 164:2160-2169)、4-1BB (Melero等人(1997) Nature Medicine 3:682-685(1997) 和ICOS (Hutloff等人(1999) Nature 397:262-266)的活化性抗体也可以提供T细胞活化水平增加。PD1或PD-L1的抑制剂也可以与抗TIM3抗体联合使用。其他组合在本文其他地方提供。

[0486] 骨髓移植目前用于治疗多种造血来源的肿瘤。虽然移植物抗宿主病是该治疗的结果,但是可以从移植物抗肿瘤应答中获得治疗益处。TIM3抑制可用于增加供体移植的肿瘤特异性T细胞的有效性。

[0487] 存在若干实验治疗方案,其涉及离体活化和扩增抗原特异性T细胞和将这些细胞过继转移至受体中以刺激针对肿瘤的抗原特异性T细胞 (Greenberg&Riddell (1999) Science 285:546-51)。这些方法也可以用于活化针对传染源诸如CMV的T细胞应答。存在抗TIM3抗体的情况下离体活化可以增加过继转移的T细胞的频率和活性。

[0488] XVI.B. 传染病

本文所述的方法还可用于治疗已暴露于特定毒素或病原体的患者。因此,本文所述的另一方面提供治疗主体中的传染病的方法,其包括向主体施用抗TIM3抗体或其抗原结合部分,使得对所述主体治疗传染病。另外或可替代地,抗体可以是嵌合或人源化抗体。

[0489] 与如上述的其对肿瘤的应用类似,抗体介导的TIM3抑制可以单独使用、或作为辅助剂与疫苗组合使用,以刺激对病原体、毒素和自体抗原的免疫应答。该治疗方法可以特别有用的病原体的实例包括目前尚无有效疫苗的病原体或常规疫苗对其不是完全有效的病原体。这些包括但不限于HIV、肝炎(甲肝、乙肝和丙肝)、流感、疱疹、贾第鞭毛虫、疟疾、利什曼原虫、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)。TIM3抑制针对由病原体诸如随感染过程呈递改变的抗原的HIV建立的感染特别有用。这些新表位在抗人TIM3抗体施用时被识别为外源的,因此激发强T细胞应答。

[0490] 引起可由本文所述方法治疗的感染的病原性病毒的一些实例包括HIV、肝炎(甲肝、乙肝和丙肝)、疱疹病毒(例如VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-II和CMV、EB病毒)、腺病毒、流感病毒、黄病毒、埃可病毒、鼻病毒、柯萨奇病毒、冠状病毒、呼吸道合胞病毒、腮腺炎病毒、轮状病毒、麻疹病毒、风疹病毒、细小病毒、牛痘病毒、HTLV病毒、登革热病毒、乳头瘤病毒、软疣病毒、脊髓灰质炎病毒、狂犬病病毒、JC病毒和虫媒脑炎病毒。

[0491] 引起可由本文所述的方法治疗的感染的病原性细菌的一些实例包括衣原体、立克次体、分枝杆菌、葡萄球菌、链球菌、肺炎球菌、脑膜炎球菌和淋球菌、克雷伯氏菌、变形杆菌、沙雷菌、假单胞菌、军团菌、白喉、沙门氏菌、芽孢杆菌、霍乱、破伤风、肉毒中毒、炭疽、鼠疫、钩端螺旋体病和莱姆病病菌。

[0492] 引起可由本文所述的方法治疗的感染的病原性真菌的一些实例包括假丝酵母(白色念珠菌、克柔假丝酵母、光滑假丝酵母、热带假丝酵母等)、新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)、曲霉(烟曲霉、黑曲霉等)、属毛霉目(毛霉属、犁头霉属、根霉属)、申克氏胞丝菌(*Sporothrix schenckii*)、皮炎芽生菌(*Blastomyces dermatitidis*)、巴西副球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗球孢子菌(*Coccidioides immitis*)和荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*)。

[0493] 引起可由本文所述的方法治疗的感染的病原性寄生虫的一些实例包括痢疾变形虫(*Entamoeba histolytica*)、结肠小袋纤毛虫(*Balantidium coli*)、福氏耐格里变形虫(*Naegleria fowleri*)、棘阿米巴属种(*Acanthamoeba* sp.)、蓝氏贾第虫(*Giardia lamblia*)、隐孢子虫属种(*Cryptosporidium* sp.)、卡氏肺孢子虫(*Pneumocystis carinii*)、间日疟原虫(*Plasmodium vivax*)、微小巴贝虫(*Babesia microti*)、布氏锥虫(*Trypanosoma brucei*)、克氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*)、杜氏利什曼原虫(*Leishmania donovani*)、刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)和巴西日圆线虫(*Nippostrongylus brasiliensis*)。

[0494] 在所有上述方法中,TIM3抑制可以与其他形式的免疫疗法,例如本文所述的那些,诸如细胞因子治疗(例如干扰素、GM-CSF、G-CSF、IL-2)或双特异性抗体疗法组合,其提供增强的肿瘤抗原呈递(参见例如,Holliger(1993) *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90:6444-6448; Poljak(1994) *Structure* 2:1121-1123)。

[0495] XVI.C.自身免疫反应

抗TIM3抗体可以激发和扩增自身免疫反应。实际上,使用肿瘤细胞和肽疫苗诱导抗肿瘤应答表明许多抗肿瘤应答涉及抗自身反应性(van Elsas等人(2001) *J.Exp.Med.* 194:481-489;Overwijk,等人(1999) *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 96:2982-2987;Hurwitz,(2000)同上;Rosenberg&White(1996) *J.Immunother Emphasis Tumor Immunol* 19(1):81-4)。因此,可以考虑将抗TIM3抗体与各种自身蛋白结合使用,以便设计接种方案以有效地产生针对这些自身蛋白的免疫应答用于疾病治疗。例如,阿尔茨海默氏病涉及脑中淀粉样蛋白沉积物中A β 肽的不适当积累;针对淀粉样蛋白的抗体应答能够清除这些淀粉样蛋白沉积物(Schenk等人,(1999) *Nature* 400:173-177)。

[0496] 其他自身蛋白也可用作靶标,例如用于治疗过敏症和哮喘的IgE,以及用于类风湿性关节炎的TNF- α 。最后,可以通过使用抗TIM3抗体诱导针对各种激素的抗体应答。针对生殖激素的中和抗体应答可用于避孕。针对特定肿瘤生长所需的激素和其他可溶性因子的中和抗体应答也可以被认为是可能的接种靶标。

[0497] 使用抗TIM3抗体的如上所述的类似方法可用于诱导治疗性自身免疫应答,以治疗具有其他自身抗原(例如淀粉样蛋白沉积物,包括阿尔茨海默病中的A β ,细胞因子如TNF- α 和IgE)不适当积聚的患者。

[0498] XVI.D. 疫苗

本文所述的抗TIM3抗体可以用于通过共施用抗TIM3抗体和目标抗原(例如疫苗)来刺激抗原特异性免疫应答。因此,本文提供了增强主体中针对抗原的免疫应答的方法,其包括向主体施用:(i) 抗原;和(ii) 抗TIM3抗体或其抗原结合部分,从而增强主体中针对所述抗原的免疫应答。抗体可以是人抗人TIM3抗体(例如本文所述的任何人抗TIM3抗体)。另外或可替代地,抗体可以是嵌合或人源化抗体。抗原例如可以是例如肿瘤抗原、病毒抗原、细菌抗原或来自病原体的抗原。此类抗原的非限制性实例包括以上部分中讨论的那些,诸如上文讨论的肿瘤抗原(或肿瘤疫苗)或来自病毒、细菌或上述的其他病原体的抗原。

[0499] 在某些实施方案中,将包含抗TIM3抗体结合的表位的肽或融合蛋白用作疫苗代替抗TIM3抗体,或除抗TIM3抗体之外将所述肽或融合蛋白还用作疫苗。

[0500] 体内和体外施用本文所述的抗体组合物(例如人单克隆抗体、多特异性和双特异性分子和免疫缀合物)的合适途径是本领域众所周知的并且可由普通技术人员选择。例如,抗体组合物可以通过注射(静脉内或皮下)施用。所用分子的合适剂量将取决于主体的年龄和体重以及抗体组合物的浓度和/或制剂。

[0501] 如前所述,本文所述的抗TIM3抗体可以与一种或多种治疗剂诸如细胞毒性剂、放射毒性剂或免疫抑制剂共同施用。抗体可以与药剂连接(作为免疫复合物)或可以与药剂分开施用。在后一种情况下(分开施用),抗体可以在药剂之前、之后或与其同时施用,或者可以与其他已知疗法例如抗癌疗法例如放射共施用。此类治疗剂尤其包括抗肿瘤药诸如多柔比星(阿霉素)、顺铂硫酸博莱霉素、卡莫司汀、瘤可宁、达卡巴嗪和环磷酰胺羟基脲,其单独时仅在对患者有毒或亚毒性的水平下是有效的。顺铂以100mg/ml剂量每四周静脉内施用一次并且阿霉素以60-75mg/ml剂量每21天静脉内施用一次。共施用本文所述的抗TIM3抗体或其抗原结合片段与化疗剂提供两种抗癌剂,其经对人肿瘤细胞产生细胞毒性作用的不同机制运作。此类共施用可以解决由于发展对药物抗性或将使肿瘤细胞对于抗体无反应性的肿瘤细胞抗原性的改变引起的问题。

[0502] 还在本文所述的范围内的是包含本文所述的抗体组合物(例如,人抗体、双特异性或多特异性分子、或免疫缀合物)及使用说明书的试剂盒。试剂盒可以进一步包含至少一种额外试剂、或一种或多种本文所述的额外的人抗TIM3抗体(例如,具有结合与第一人抗体不同的TIM3抗原中的表位的互补活性的人抗体)。试剂盒通常包含说明试剂盒的内含物的预期用途的标签。术语标签包括任何提供于试剂盒上或连同试剂盒提供的或以其他方式伴随试剂盒提供的任何书写的或记录的材料。

[0503] XVI.E. 组合疗法

除了上文提供的组合疗法之外,抗TIM3抗体(例如本文所述的那些)也可以用于组合疗法,例如用于治疗癌症,如下所述。

[0504] 本文提供的是组合疗法的方法,其中抗TIM3抗体与一种或多种额外药剂共同施用,所述额外药剂例如小分子药物,抗体或其抗原结合部分,其在刺激免疫应答中有效,从而进一步增强、刺激或上调主体中的免疫应答。

[0505] 通常,例如本文所述的抗TIM3抗体可以与免疫细胞,如T细胞上的(i)刺激(例如,共刺激)分子(例如,受体或配体)的激动剂和/或(ii)抑制信号或分子(例如,受体或配体)的拮抗剂组合,两者都导致扩增免疫应答,如抗原特异性T细胞应答。在某些方面,免疫-肿瘤药剂是细胞,例如抑制T细胞活化的那些或参与先天免疫的那些,例如NK细胞上的(i)刺激(包括共刺激)分子(例如,受体或配体)的激动剂或(ii)抑制(包括共抑制)分子(例如,受体或配体)的拮抗剂,并且其中免疫肿瘤药剂增强先天免疫。此类免疫肿瘤药剂通常称为免疫检查点调节剂,例如免疫检查点抑制剂或免疫检查点刺激剂。

[0506] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体与靶向刺激或抑制分子的药剂一起施用,所述刺激或抑制分子是免疫球蛋白超家族(IgSF)的成员。例如,例如本文所述的抗TIM3抗体可以与靶向IgSF家族成员的药剂一同向主体施用以增加免疫应答。例如,抗TIM3抗体可以与靶向(或特异性结合)膜结合配体的B7家族成员的药剂或特异性结合B7家族成员的共刺激或共抑制受体或配体一起施用,所述B7家族包括B7-1、B7-2、B7-H1(PD-L1)、B7-DC(PD-L2)、B7-H2(ICOS-L)、B7-H3、B7-H4、B7-H5(VISTA)和B7-H6。

[0507] 抗TIM3抗体也可以与靶向TNF和TNFR分子家族成员(配体或受体)的药剂一起施用,所述成员诸如CD40和CD40L、OX-40、OX-40L、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-1BBL、CD137、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、TACI、APRIL、BCMA、LTpR、LIGHT、DcR3、HVEM、VEGI/TL1A、TRAMP/DR3、EDA1、EDA2、TNFR1、淋巴毒素 α /TNFp、TNFR2、TNF α 、LTpR、淋巴毒素 α 1 β 2、FAS、FASL、RELT、DR6、TROY和NGFR(参见例如Tansey(2009)Drug Discovery Today 00:1)。

[0508] 可以通过具有例如TIM3.2、TIM3.4、TIM3.5、TIM3.6、9F6、8B9、TIM3.9、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17、TIM3.18、TIM3.7和TIM3.8的可变区的抗TIM3抗体与以下药剂中的一种或多种的组合来刺激T细胞应答:

(1) 抑制T细胞活化的蛋白(例如,免疫检查点抑制剂)的拮抗剂(抑制剂或阻断剂),所述蛋白诸如CTLA-4、PD-1、PD-L1、PD-L2、GITR和LAG-3、半乳凝集素9、CEACAM-1、BTLA、CD69、半乳凝集素-1、TIGIT、CD113、GPR56、VISTA、B7-H3、B7-H4、2B4、CD48、GARP、PD1H、LAIR1、TIM-1和TIM-4;和/或

(2) 刺激T细胞活化的蛋白的激动剂,所述蛋白诸如B7-1、B7-2、CD28、4-1BB(CD137)、4-1BBL、GITR、ICOS、ICOS-L、OX40、OX40L、CD70、CD27、CD40、DR3和CD28H。

[0509] 调节上述蛋白之一并且可以与抗TIM3抗体(例如本文所述的那些)组合用于治疗癌症的示例性药剂包括: Yervoy[®](伊匹单抗)或曲美母单抗(针对CTLA-4)、加利昔单抗(针对B7.1)、BMS-936558(针对PD-1)、MK-3475(针对PD-1)、阿特珠单抗(TECENTRIQ[®])、AMP224(针对B7DC)、BMS-936559(针对B7-H1)、MPDL3280A(针对B7-H1)、MEDI-570(针对ICOS)、AMG557(针对B7H2)、MGA271(针对B7H3)、IMP321(针对LAG-3)、BMS-663513(针对CD137)、PF-05082566(针对CD137)、CDX-1127(针对CD27)、抗OX40(Providence Health Services)、huMAbOX40L(针对OX40L)、阿塞西普(针对TACI)、CP-870893(针对CD40)、鲁卡木单抗(针对CD40)、达西珠单抗(针对CD40)、Muromonab-CD3(针对CD3);抗GITR抗体MK4166、TRX518、Medi1873、INBRX-110、LK2-145、GWN-323、GITRL-Fc或其任何组合。

[0510] 可以与抗TIM3抗体组合用于治疗癌症的其他分子包括NK细胞上的抑制性受体的拮抗剂或NK细胞上的活化受体的激动剂。例如,抗TIM3抗体可以与KIR的拮抗剂(例如,

lirilumab)组合。

[0511] T细胞活化也受可溶性细胞因子的调节,并且抗TIM3抗体可以与抑制T细胞活化的细胞因子的拮抗剂或刺激T细胞活化的细胞因子的激动剂一起施用于例如患有癌症的主体。

[0512] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体可以与(i)抑制T细胞活化的IgSF家族或B7家族或TNF家族的蛋白的拮抗剂(或抑制剂或阻断剂)或抑制T细胞活化的细胞因子(例如,IL-6、IL-10、TGF- β 、VEGF;“免疫抑制细胞因子”)的拮抗剂和/或(ii)IgSF家族、B7家族或TNF家族的刺激受体或刺激T活化的细胞因子的激动剂组合使用,用于刺激免疫应答,例如用于治疗增生性疾病,如癌症。

[0513] 用于组合疗法的其他药剂包括抑制或消耗巨噬细胞或单核细胞的药剂,包括但不限于CSF-1R拮抗剂,如CSF-1R拮抗剂抗体,包括RG7155(W011/70024、W011/107553、W011/131407、W013/87699、W013/119716、W013/132044)或FPA-008(W011/140249;W013169264;W014/036357)。

[0514] 抗TIM3抗体也可以与抑制TGF- β 信号传导的药剂一起施用。

[0515] 可以与抗TIM3抗体组合的额外药剂包括增强肿瘤抗原呈递的药剂,例如树突细胞疫苗、分泌GM-CSF的细胞疫苗、CpG寡核苷酸和咪喹莫特,或增强肿瘤细胞免疫原性的疗法(例如,萘环类抗生素)。

[0516] 可以与抗TIM3抗体组合的仍其他疗法包括消耗或阻断Treg细胞的疗法,例如特异性结合CD25的药剂。

[0517] 可以与抗TIM3抗体组合的另一种疗法是抑制代谢酶的疗法,例如吡哆胺双加氧酶(IDO)、双加氧酶、精氨酸酶或一氧化氮合成酶。

[0518] 可以与抗TIM3抗体一起使用的另一类药剂包括抑制腺苷形成的药剂(例如,CD73抑制剂)或抑制腺苷A2A受体的药剂。

[0519] 可以与抗TIM3抗体组合用于治疗癌症的其他疗法包括逆转/预防T细胞无反应性或耗尽的疗法以及在肿瘤部位引发先天免疫活化和/或炎症的疗法。

[0520] 可以与抗TIM3抗体组合用于治疗癌症的其他疗法包括例如用HuMax-IL8阻断IL-8的疗法。

[0521] 抗TIM3抗体可以与多于一种免疫肿瘤药剂组合,并且可以例如与靶向免疫途径的多种元件的组合方法组合,所述组合方法诸如以下一种或多种:增强肿瘤抗原呈递的疗法(例如,树突细胞疫苗、分泌GM-CSF的细胞疫苗、CpG寡核苷酸、咪喹莫特);抑制负免疫调节的疗法,例如,通过抑制CTLA-4和/或PD1/PD-L1/PD-L2途径和/或消除或阻断Treg或其他免疫抑制细胞;刺激正免疫调节的疗法,例如,用刺激CD-137、OX-40和/或CD40或GITR途径和/或刺激T细胞效应子功能的激动剂;系统增加抗肿瘤T细胞频率的疗法;例如,使用CD25的拮抗剂(例如达克珠单抗)或通过离体抗CD25珠消耗来消耗或抑制Treg(如肿瘤中的Treg)的疗法;影响肿瘤中抑制性骨髓细胞功能的疗法;增强肿瘤细胞的免疫原性的疗法(例如,萘环类抗生素);过继性T细胞或NK细胞转移,包括遗传修饰的细胞,例如通过嵌合抗原受体修饰的细胞(CAR-T疗法);抑制代谢酶的疗法,所述代谢酶如吡哆胺双加氧酶(IDO)、双加氧酶、精氨酸酶或一氧化氮合成酶;逆转/阻止T细胞无反应性或耗尽的疗法;在肿瘤部位引发先天免疫活化和/或炎症的疗法;施用免疫刺激细胞因子;或阻断免疫抑制细胞因子。

[0522] 本文所述的抗TIM3抗体可与以下药剂一起使用:连接正共刺激受体的一种或多种激动剂、通过抑制性受体减弱信号传导的阻断剂、拮抗剂和系统增加抗肿瘤T细胞频率的一种或多种药剂、克服肿瘤微环境中不同免疫抑制途径(例如,阻断抑制受体接合(例如,PD-L1/PD-1相互作用)、消耗或抑制Treg(例如,使用抗CD25单克隆抗体(例如,达克珠单抗))或通过离体抗-CD25珠消耗)、抑制代谢酶如IDO,或逆转/阻止T细胞无反应性或衰竭)的药剂和在肿瘤部位引发先天免疫活化和/或炎症的药剂。

[0523] 在某些实施方案中,如果主体是BRAF V600突变阳性,则将抗TIM3抗体与BRAF抑制剂一起施用于主体。

[0524] 用于本文所述组合疗法的适合PD-1拮抗剂包括但不限于配体、抗体(例如,单克隆抗体和双特异性抗体)和多价药剂。在一个实施方案中,PD-1拮抗剂是融合蛋白,例如Fc融合蛋白,如AMP-244。在一个实施方案中,PD-1拮抗剂是抗PD-1或抗PD-L1抗体。

[0525] 示例性抗PD-1抗体是纳武单抗(BMS-936558)或包含WO 2006/121168中描述的抗体17D8、2D3、4H1、5C4、7D3、5F4和4A11之一的CDR或可变区的抗体。在某些实施方案中,抗PD-1抗体是WO2012/145493中描述的MK-3475(兰洛珠单抗(Lambrolizumab));WO 2012/145493中描述的AMP-514;或PDR001。其他已知的PD-1抗体和其他PD-1抑制剂包括WO 2009/014708、WO 03/099196、WO 2009/114335、WO 2011/066389、WO 2011/161699、WO 2012/145493、美国专利号7,635,757和8,217,149,和美国专利公开号2009/0317368中描述的那些。也可以使用WO2013/173223中公开的任何抗PD-1抗体。与这些抗体之一竞争结合PD-1上的相同表位和/或与其结合的抗PD-1抗体也可以用于组合治疗。

[0526] 在一些实施方案中,可用于组合疗法的抗PD-L1抗体是BMS-936559(在WO 2007/005874和美国专利号7,943,743中称为12A4),或包含PCT公开WO 07/005874和美国专利号7,943,743中描述的3G10、12A4、10A5、5F8、10H10、1B12、7H1、11E6、12B7和13G4的CDR或可变区的抗体。在某些实施方案中,抗PD-L1抗体是MEDI4736(也称为度伐单抗和抗B7-H1)、MPDL3280A(也称为阿特珠单抗和RG7446)、MSB0010718C(也称为avelumab;WO2013/79174)或rHigM12B7。还可以使用WO2013/173223、WO2011/066389、WO2012/145493、美国专利号7,635,757和8,217,149以及美国公开号2009/145493中公开的任何抗PD-L1抗体。竞争和/或结合如任何这些抗体表位的相同表位的抗PD-L1抗体也可用于组合治疗。

[0527] 在某些实施方案中,本公开的抗TIM3抗体可以与CTLA-4拮抗剂,例如抗-CTLA-4抗体一起使用。在一个实施方案中,抗CTLA-4抗体是选自以下的抗体:Yervoy®(在PCT公开WO 01/14424中描述的伊匹单抗或抗体10D1)、曲美母单抗(先前称为替西木单抗,CP-675,206)、在以下任何出版物中描述的单克隆或抗CTLA-4抗体:WO 98/42752;WO 00/37504;美国专利号6,207,156;Hurwitz等人(1998)Pro.Natl.Acad.Sci.USA 95(17):10067-10071;Camacho等人(2004)J.Clin.Oncology 22(145):Abstract No.2505(抗体CP-675206);和Mokyr等人(1998)Cancer Res.58:5301-5304。也可以使用WO2013/173223中公开的任何抗CTLA-4抗体。

[0528] 在其他实施方案中,本公开的抗TIM3抗体与LAG3拮抗剂组合使用。抗LAG3抗体的实例包括含有描述于美国专利公开号US2011/0150892、WO10/19570和WO2014/008218中的抗体25F7、26H10、25E3、8B7、11F2或17E5的CDR或可变区的抗体。在一个实施方案中,抗LAG-3抗体是BMS-986016。可以使用的其他本领域公认的抗LAG-3抗体包括IMP731和IMP-321,其

描述于US2011/007023、W008/132601和W009/44273中。竞争和/或结合如任何这些抗体表位的相同表位的抗LAG-3抗体也可用于组合治疗。

[0529] 在一些实施方案中,本公开的抗TIM3抗体可以与CD137 (4-1BB) 激动剂,如激动性CD137抗体组合施用。合适的CD137抗体包括例如乌瑞鲁单抗或PF-05082566 (W012/32433)。

[0530] 在其他实施方案中,抗TIM3抗体可以与OX40激动剂,如激动性OX40抗体组合施用。合适的OX40抗体包括例如MEDI-6383、MEDI-6469或MOXR0916 (RG7888; W006/029879)。

[0531] 在一个实施方案中,抗TIM3抗体与CD40激动剂,如激动性CD40抗体组合施用。在某些实施方案中,免疫肿瘤药剂是CD40拮抗剂,如拮抗性CD40抗体。合适的CD40抗体包括例如鲁卡木单抗 (HCD122)、达西珠单抗 (SGN-40)、CP-870,893或Chi Lob 7/4。

[0532] 在一个实施方案中,抗TIM3抗体与CD27激动剂,如激动性CD27抗体组合施用。合适的CD27抗体包括例如伐利鲁单抗 (CDX-1127)。

[0533] 在某些实施方案中,抗TIM3抗体与抗GITR抗体一起施用,所述抗GITR抗体例如具有6C8的CDR序列的抗体,例如在W02006/105021中描述的具有6C8的CDR的人源化抗体;包含W02011/028683中描述的抗GITR抗体的CDR的抗体;包含JP2008278814中描述的抗GITR抗体的CDR的抗体、包含W02015/031667、W02015/187835、W02015/184099、W02016/054638、W02016/057841或W02016/057846中描述的抗GITR抗体或本文描述或提及的其他抗GITR抗体的CDR的抗体。

[0534] 在其他实施方案中,抗TIM3抗体与MGA271 (针对B7H3) (W011/109400) 组合施用。

[0535] 在一些实施方案中,抗TIM3抗体与KIR拮抗剂,如lirilumab组合施用。

[0536] 在其他实施方案中,抗TIM3抗体与IDO拮抗剂组合施用。合适的IDO拮抗剂包括,例如,INCB-024360 (W02006/122150、W007/75598、W008/36653、W008/36642)、吡啶莫德、NLG-919 (W009/73620、W009/1156652、W011/56652、W012/142237) 或F001287。

[0537] 在仍其他的实施方案中,抗TIM3抗体与Toll样受体激动剂,例如TLR2/4激动剂 (例如,卡介苗 (Bacillus Calmette-Guerin)); TLR7激动剂 (例如,Hiltonol或咪喹莫特); TLR7/8激动剂 (例如,瑞喹莫德); 或TLR9激动剂 (例如,CpG7909) 组合施用。

[0538] 在一个实施方案中,抗TIM3与TGF- β 抑制剂,例如GC1008、LY2157299、TEW7197或IMC-TR1组合施用。

[0539] 本文所述的抗TIM3抗体和组合疗法还可以与其他众所周知的疗法联合使用,所述疗法因针对所治疗的适应症 (例如,癌症) 特别有用而被选择。本文所述的抗TIM3抗体的组合可以与已知的药学上可接受的药剂顺序使用。

[0540] 例如,本文所述的抗TIM3抗体和组合疗法可以与额外的治疗组合 (例如,同时或分开) 使用,所述额外的治疗例如放射和/或化疗,例如使用喜树碱 (CPT-11)、5-氟尿嘧啶 (5-FU)、顺铂、多柔比星、伊立替康、紫杉醇、吉西他滨、顺铂、紫杉醇、卡铂-紫杉醇 (紫杉醇 (Taxol))、多柔比星,或喜树碱+apo21/TRAIL (6X combo)、一种或多种蛋白酶体抑制剂 (例如,硼替佐米或MG132)、一种或多种Bcl-2抑制剂 (例如,BH3I-2' (bcl-x1抑制剂)、吡啶胺双加氧酶-1抑制剂 (例如,INCB24360、吡啶莫德、NLG-919或F001287)、AT-101 (R-(-)-棉酚衍生物)、ABT-263 (小分子)、GX-15-070 (obatoclax) 或MCL-1 (髓样白血病细胞分化蛋白-1) 拮抗剂)、iAP (凋亡蛋白抑制剂) 拮抗剂 (例如,smac7、smac4、小分子smac模拟物、合成的smac肽 (参见Fulda等人,Nat Med 2002;8:808-15)、ISIS23722 (LY2181308) 或AEG-35156 (GEM-

640))、HDAC(组蛋白脱乙酰基酶)抑制剂、抗CD20抗体(例如,利妥昔单抗)、血管生成抑制剂(例如,贝伐单抗)、靶向VEGF和VEGFR的抗血管生成剂(例如,安维汀)、合成三萜(参见Hyer等人,Cancer Research 2005;65:4799-808)、c-FLIP(细胞FLICE抑制蛋白)调节剂(例如,PPAR γ 的天然和合成配体(过氧化物酶体增殖物活化受体 γ),5809354或5569100)、激酶抑制剂(例如,索拉非尼)、曲妥珠单抗、西妥昔单抗、替西罗莫司、mTOR抑制剂如雷帕霉素和替西罗莫司、硼替佐米、JAK2抑制剂、HSP90抑制剂、PI3K-AKT抑制剂、来那度胺、GSK3P抑制剂、IAP抑制剂和/或遗传毒性药物。

[0541] 本文所述的抗TIM3抗体和组合疗法可进一步与一种或多种抗增殖细胞毒性剂组合使用。可用作抗增殖细胞毒性剂的化合物的类别包括但不限于以下:

烷基化剂(包括但不限于氮芥、乙烯亚胺衍生物、烷基磺酸酯、亚硝基脲和三氮烯):尿嘧啶氮芥、氮芥(Chlormethine)、环磷酰胺(CYTOXAN[®]) fosfamide、美法仑、苯丁酸氮芥、哌泊溴烷、曲他胺(Triethylenemelamine)、三乙烯硫代磷酰胺、白消安、卡莫司汀、洛莫司汀、链佐星、达卡巴嗪和替莫唑胺。

[0542] 抗代谢药物(包括但不限于叶酸拮抗剂、嘧啶类似物、嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂):甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶、氟尿苷、阿糖胞苷、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨、喷司他丁和吉西他滨。

[0543] 用于与抗TIM3抗体组合的合适的抗增殖剂不限于紫杉烷、紫杉醇(紫杉醇可以作为TAXOL[™]通过商业途径获得)、多西他赛、圆皮海绵内酯(DDM)、dictyostatin(DCT)、Peloruside A、埃博霉素、埃博霉素A、埃博霉素B、埃博霉素C、埃博霉素D、埃博霉素E、埃博霉素F、呋喃埃博霉素D、脱氧埃博霉素B1、[17]-脱氢脱氧埃博霉素B、[18]脱氢脱氧埃博霉素B、C12,13-环丙基-埃博霉素A、C6-C8桥联埃博霉素A、反式-9,10-脱氢埃博霉素D、顺式-9,10-脱氢埃博霉素D、16-去甲基埃博霉素B、埃博霉素BI0、discoderomolide、帕土匹龙(EP0-906)、KOS-862、KOS-1584、ZK-EP0、ABJ-789、XAA296A(Discodermolide)、TZZ-1027(soblidotin)、ILX-651(盐酸tasidotin)、软海绵素B、甲磺酸艾日布林(E-7389)、哈密特林(HTI-286)、E-7974、自念珠藻环肽、LY-355703、美登醇免疫缀合物(DM-1)、MKC-1、ABT-751、T1-38067、T-900607、SB-715992(伊斯平斯)、SB-743921、MK-0731、STA-5312、软珊瑚醇、17 β -乙酰氧基-2-乙氧基-6-氧代-B-高-雌-1,3,5(10)-三烯-3-醇、cyclostreptin、isolaulimalide、laulimalide、4-表-7-脱羟基-14,16-二去甲基-(+)-圆皮海绵内酯和cryptothilone 1以及本领域已知的其他微管稳定剂。

[0544] 在与本文所述的抗TIM3抗体治疗组合或在用本文所述的抗TIM3抗体治疗之前期望使异常增殖细胞静息的情况下,激素和类固醇(包括合成类似物),如17 α -炔雌醇、己烯雌酚、睾酮、泼尼松、氟甲睾酮、屈他雄酮丙酸酯、睾内酯、醋酸甲地孕酮、甲泼尼龙、甲基-睾酮、泼尼松龙、曲安西龙、氯烯雌醚、羟孕酮、氨鲁米特、雌氮芥、醋酸甲羟孕酮、亮丙瑞林、氟他胺、托瑞米芬、ZOLADEX[®]也可以施用于患者。当使用本文所述的方法或组合物时,也可以根据需要施用在临床环境中用于调节肿瘤生长或转移的其他药剂,如抗模拟剂(antimimetics)。

[0545] 在某些实施方案中,本文讨论的抗TIM3抗体和第二药剂的组合可以作为在药学上可接受的载体中的单一组合物同时施用,或者抗TIM3抗体和第二药剂在药学上可接受的载体中作为单独的组合物同时施用。在另一个实施方案中,抗TIM3抗体和第二药剂的组合可

以顺序施用。两种药剂的施用可以以间隔例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或一周或多周的时间开始,或第二药剂的施用可以在已经施用第一药剂后例如30分钟、60分钟、90分钟、120分钟、3小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、3天、5天、7天或一周或多周开始。

[0546] 在一些实施方案中,可以与抗TIM3抗体和/或第二药剂组合的抗肿瘤抗体包括RITUXAN® (利妥昔单抗)、HERCEPTIN® (曲妥珠单抗)、BEXXAR® (托西莫单抗)、ZEVALIN® (替伊莫单抗)、CAMPATH® (阿仑珠单抗)、LYMPHOCIDE® (依帕珠单抗)、AVASTIN® (贝伐单抗)和TARCEVA® (厄洛替尼),或其任何组合。在其他实施方案中,可用于与抗TIM3抗体的组合疗法的第二抗体可以是抗体药物缀合物。

[0547] 在其他实施方案中,抗TIM3抗体单独或与另一种药剂组合与骨髓移植同时或顺序使用以治疗多种造血来源的肿瘤。

[0548] 本文提供了改变与用免疫刺激剂治疗过度增殖性疾病(例如,癌症)相关的不良事件的方法,其包括向主体施用具有或不具有第二药剂的抗TIM3抗体。例如,本文所述的方法提供了通过向患者施用不可吸收的类固醇来降低免疫刺激性治疗抗体诱导的结肠炎或腹泻的发病率的方法。如本文所用,“不可吸收的类固醇”是糖皮质激素,其表现出广泛的首过代谢,使得在肝脏代谢后,类固醇的生物利用度低,即小于约20%。在本文所述的一个实施方案中,不可吸收的类固醇是布地奈德。布地奈德是局部作用的糖皮质激素,其口服施用后主要通过肝脏广泛代谢。ENTOCORTEC® (Astra-Zeneca)是开发以优化药物递送至回肠和整个结肠的布地奈德的pH和时间依赖性的口服制剂。ENTOCORTEC®是在美国批准上市用于治疗涉及回肠和/或升结肠的轻度至中度的克罗恩病。在更进一步的实施方案中,与不可吸收的类固醇缀合的抗TIM3抗体可以进一步与水杨酸盐组合。水杨酸盐包括5-ASA试剂如,例如:柳氮磺吡啶吡啶(AZULFIDINE®, Pharmacia&Up John);奥沙拉嗪(DJPENTUM®, Pharmacia&Up John);巴柳氮(COLAZAL®, Salix Pharmaceuticals, Inc.);和马沙拉嗪(ASACOL®, Procter&Gamble Pharmaceuticals; PENTASA®, Shire US; CANASA®, Axcan Scandipharm, Inc.; ROWASA®, Solvay)。

[0549] 表1

SEQ ID	描述	序列
1	TIM3.5 (13A3) IgG1.1f 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPSCKDTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
2	8B9 IgG1.1f 重链	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKGLEWIGYIHYSGSTNYNSSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGTITVTSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPSCKDTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY YKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
3	TIM3.6 (8C4) IgG1.1f 重链	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIHYTGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATDTGYGMDVWGQGTITVTSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPSCKDTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT

SEQ ID	描述	序列
4	TIM3.2 (17C3) IgG1.1f 重链	CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK* QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPRGDSIIYAQKFQGRVTMTDRDTSSTVYMEISSLRSEDYAVYYCARDYFGSGNYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
5	9F6 IgG1.1f 重链	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSQAASGFTFSFYMSWIRQAPGKLEWVSFISGGGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDYAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
6	TIM3.4 (3G4) IgG1.1f 重链	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSQAASGFTFSFYMSWIRQAPGKLEWVSFISGGGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDYAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
7	TIM3.9 (17C8) IgG1.1f 重链	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSQAASGFTFSFYMSWIRQAPGKLEWVSFISGGGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDYAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
8	TIM3.5 (13A3) IgG1.1f 重链 (无C末端K)	QLQLQESGGLVLPKSETLSLTCTVSGGSISSRSYWGWIQPPGKLEWIGIYYSGFTYINPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDIYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG*
9	8B9 IgG1.1f 重链 (无C末端K)	QVQLQESGGLVLPKSETLSLTCTVSGGSISSRYWNIQPPGKLEWIGIYHYGSTNYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG*
10	TIM3.6 (8C4) IgG1.1f 重链 (无C末端K)	QVQLQESGGLVLPKSETLSLTCTVSGGSISSRYWNIQPPGKLEWIGIYHYGSTNYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATDTGYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG*
11	TIM3.2 (17C3) IgG1.1f 重链 (无C末端K)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPRGDSIIYAQKFQGRVTMTDRDTSSTVYMEISSLRSEDYAVYYCARDYFGSGNYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG*
12	9F6 IgG1.1f 重链 (无C末端K)	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSQAASGFTFSFYMSWIRQAPGKLEWVSFISGGGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDYAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPG*

SEQ ID	描述	序列
		GQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
13	TIM3.4 (3G4) IgG1.1f 重链 (无C末端K)	QVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSQAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISTSGSIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGYSSWSYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
14	TIM3.9 (17C8) IgG1.1f 重链 (无C末端K)	QVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSQAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISSSSGSIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYSSGWYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG*
15	TIM3.5 (13A3) IgG1.3f 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYINPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWDFWGGGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
16	8B9 IgG1.3f 重链	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRYWWSWIRQPPGKGLEWIGIYHYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
17	TIM3.6 (8C4) IgG1.3f 重链	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRYWWSWIRQPPGKGLEWIGIYHYTGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATDTGYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
18	TIM3.2 (17C3) IgG1.3f 重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPRGDSIIYAQKFKGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGYSGNYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
19	9F6 IgG1.3f 重链	QVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSQAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
20	TIM3.4 (3G4) IgG1.3f 重链	QVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSQAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISTSGSIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGYSSWSYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
21	TIM3.9 (17C8) IgG1.3f 重链	QVQLVESGGGLVKKPGGSLRLSQAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISSSSGSIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYSSGWYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPEKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFFVLDSGSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

SEQ ID	描述	序列
22	TIM3.5 (13A3) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG*
23	8B9 IgG1.3f 重链 (无C末端K)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGSTNYNSSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY YKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG*
24	TIM3.6 (8C4) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGSTNYNSSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATDTGYGMDIWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY YKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG*
25	TIM3.2 (17C3) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCHASGYTFSTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPRGDSIIYAQKFKQ GRVTIMTRDTSSTVYMESSLRSEDYAVYYCARDYFGSGNYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG*
26	9F6 IgG1.3f 重链 (无C末端K)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIYYADSVK GRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG*
27	TIM3.4 (3G4) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISSTSGSIIYYADSVK GRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCAREGYSSSWYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG*
28	TIM3.9 (17C8) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISSTSGSIIYYADSVK GRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG*
72	TIM3.10 (13A3) IgG1.1f (N60Q) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK*
73	TIM3.11 (13A3) IgG1.1f (N60S) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYSPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK*
74	TIM3.12 (13A3)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYAPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPS

SEQ ID	描述	序列
	IgG1.1f (N60A) 重链	VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
75	TIM3.13 (13A3) IgG1.1f (D101E) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDIYAHWFEPWGGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
76	TIM3.14 (13A3) IgG1.1f (P102V) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDIYAHWFDPWGGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
77	TIM3.15 (13A3) IgG1.1f (P102Y) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDIYAHWFDPWGGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
78	TIM3.16 (13A3) IgG1.1f (P102L) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDIYAHWFDPWGGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
79	TIM3.17 (13A3) IgG1.1f (N60Q/P102Y) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDIYAHWFDPWGGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
349	TIM3.18 (13A3) IgG1.1f (N60Q/D101E) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDIYAHWFEPWGGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
80	TIM3.8 (8B9) IgG1.1f (S61P) 重链	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSAAAGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFIYSGGSGTIYYADSVK GRFTISRDNALNSLFQMNLSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYIGMDVWGGTTLTVSSASTKGPS SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYKCKVSN KALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
81	TIM3.7 (9F6) IgG1.1f (A108T) 重链	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSAAAGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFIYSGGSGTIYYADSVK GRFTISRDNALNSLFQMNLSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYIGMDVWGGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPFLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPGK*
82	TIM3.10 (13A3) IgG1.1f (N60Q) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDIYAHWFDPWGGTTLTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS

SEQ ID	描述	序列
	重链 (无C末端K)	RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
83	TIM3.11 (13A3) IgG1.1f (N60S) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYSPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
84	TIM3.12 (13A3) IgG1.1f (N60A) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYAPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
85	TIM3.13 (13A3) IgG1.1f (D101E) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
86	TIM3.14 (13A3) IgG1.1f (P102V) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
87	TIM3.15 (13A3) IgG1.1f (P102Y) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
88	TIM3.16 (13A3) IgG1.1f (P102L) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
89	TIM3.17 (13A3) IgG1.1f (N60Q/P102Y) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
350	TIM3.18 (13A3) IgG1.1f (N60Q/D101E) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
90	TIM3.8 (8B9)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRYWNWIRQPPGKGLEWIGIYHYSGSTNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWDGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT

SEQ ID	描述	序列
91	IgG1.1f (S61P) 重链 (无C末端K)	QTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
	TIM3.7 (9F6) IgG1.1f (A108T) 重链 (无C末端K)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSQAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKLEWVSIISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNLSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
	TIM3.10 (13A3) IgG1.3f (N60Q) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
	TIM3.11 (13A3) IgG1.3f (N60S) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYSPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
	TIM3.12 (13A3) IgG1.3f (N60A) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYAPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
	TIM3.13 (13A3) IgG1.3f (D101E) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
	TIM3.14 (13A3) IgG1.3f (P102V) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
	TIM3.15 (13A3) IgG1.3f (P102Y) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
	TIM3.16 (13A3) IgG1.3f (P102L) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK*
99	TIM3.17 (13A3) IgG1.3f	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAGAPSVFLFPPKPKDTLMIS

SEQ ID	描述	序列
	(N60Q/P102Y) 重链	RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK*
351	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFEPWGGQTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK*
100	TIM3.8 (8B9) IgG1.3f (S61P) 重链	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRHYWNWIRQPPGKGLEWIGIYHYSGSTNYPNLSKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYYGMDIWGGQTTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN YKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK*
101	TIM3.7 (9F6) IgG1.3f (A108T) 重链	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIYYADSVK GRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGGQTTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK*
102	TIM3.10 (13A3) IgG1.3f (N60Q) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGGQTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPG*
103	TIM3.11 (13A3) IgG1.3f (N60S) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYSPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGGQTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPG*
104	TIM3.12 (13A3) IgG1.3f (N60A) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYAPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGGQTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPG*
105	TIM3.13 (13A3) IgG1.3f (D101E) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFEPWGGQTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPG*
106	TIM3.14 (13A3) IgG1.3f (P102V) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGGQTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPG*
107	TIM3.15 (13A3) IgG1.3f (P102Y) 重链	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPFGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGGQTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVF SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN

SEQ ID	描述	序列
	(无C末端K)	GQPENNYKTTFPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
108	TIM3.16 (13A3) IgG1.3f (P102L) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPESETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDLWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
109	TIM3.17 (13A3) IgG1.3f (N60Q/P102Y) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPESETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDLWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
352	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) 重链 (无C末端K)	QLQLQESGPGLVKPESETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSSL KSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDLWGQGTLTVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
110	TIM3.8 (8B9) IgG1.3f (S61P) 重链 (无C末端K)	QVQLQESGPGLVKPESETLSLTCTVSGGSISSRHYWNWIRQPPGKGLEWIGIYIHSGSTNYNPSSLKS RVTIISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYYGMDIWGQGTITVTSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTFPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
111	TIM3.7 (9F6) IgG1.3f (A108T) 重链 (无C末端K)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSAAAGSTFTSDYMSWIRQAPGKGLEWVFSISGGGSTIYYADSVK GRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTITVTSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTFPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG*
29	TIM3.5 (13A3), TIM3.2 (17C3), TIM3.4 (3G4) IgG1 轻链	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCCLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
30	8B9, TIM3.6 (8C4), TIM3.9 (17C8) IgG1 轻链	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCCLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
32	9F6 VK1 IgG1 轻链	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGLVPSRFSGS GSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQFNSYPRTFGGGTTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
134	TIM3.5 (13A3) IgG1.1f 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTCGACCCTCGGGCCAGGAACCTTGGTCACCTCTCTCAGCTAGACCAAGGGGCCATCG

SEQ ID	描述	序列
		GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGAGCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCCTCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGACAGTACAAACA GCACGTACCGTGTGGTACGCGTCTCACCCTGCTGACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAAACAATACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGAGCGGCTCCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
135	8B9 IgG1.If 重链	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTGCTACTGGAACCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGG GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGAAGCACCACACTACAATTCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCAGTAGACAGCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGACCGC TGCGGACACGGCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTAGCGGTATGGACATCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC CAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTGCCACAGCTGAAGGCCAAGGGGCCCGGT CAGTCTTCTCTTCCCCCCTCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCA GCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGAGTTCTCCAAAC AAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA GGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGCGGAGAACAA TACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCCT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
136	TIM3.6 (8C4) IgG1.If 重链	CAGGTGCAGTGCAGGAGTCTGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTGTTACTACTGGAAGCTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGG GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACACTGGGAGCACCACACTACAACCCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCAGTAGACAGCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTGTGACCGC AGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGATACGGGCTACTAGCGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC CAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTGCCACAGCTGAAGCCGAAGGGGCCCGGT CAGTCTTCTCTTCCCCCCTCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCA GCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGAGTTCTCAAAC AAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA GGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGCGGAGAACAA TACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCCT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
137	TIM3.2 (17C3) IgG1.If 重链	CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCCTCAGTGAAGGTCTCCTG CAAGGCATCTGGATACACTTCCACAGCTACTATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAG GGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAACCCTAGGGGTGATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCCAG GGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG ATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTTCTATGGTTCGGGAACTACTACTACG GTATGGAGCTCTGGGGCCAAGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC

SEQ ID	描述	序列
		ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCAGCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCCCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
138	9F6 IgG1.1f 重链	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCCTCTGGATTACCTTCACTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCGAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCAATGAACAGCCTGAG AGTCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACG GTATGGACGTCTGGGGCCAAAGGACCGCGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCAGCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCGGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCAGCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACAGCGCTGAGTGACCGTGCCC CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
139	TIM3.4 (3G4) IgG1.1f 重链	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCCTCTGGATTACCTTCACTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCGAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTGGTGGTAGTATCATATACTACGAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGAAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCTTACTACT ACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAAGGACACGGTCAACCTCTCTCAGTAGCAGCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCC GGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCA GGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCAC CTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACA ACAGCAGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTT CCTCTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
140	TIM3.9 (17C8) IgG1.1f 重链	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCCTCTGGATTACCTTCACTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCGAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTGGTGGTAGTATCATATACTACGAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACG GTATGGACGTCTGGGGCCAAAGGACACGGTCAACCTCTCCTCAGCTAGCAGCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT

SEQ ID	描述	序列
		GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCACGACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTACGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAG TCAGCCTGACCTGCGTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
141	TIM3.5 (13A3) IgG1.If 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGGACCAAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGTGCTCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAACTCAGCGGCCCTGACACCGGCCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGAATGGCCAGC AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTACGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAG TCAGCCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
142	8B9 IgG1.If 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTCACTACTGGAAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGG GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGGAAAGCACCACATACAATTCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGC TGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTCAGGTATGGACATCTGGGGCC AAGGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC CAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGT CAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA GCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTGACCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
143	TIM3.6 (8C4) IgG1.If 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGG GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACACTGGGAGCACCACACTACAACCCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGC AGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGATACGGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTGCTGGAACCTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC CAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGT CAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACA

SEQ ID	描述	序列
		TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA GCCTCCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA GGTGATACACCCTGCCCCCATCCGCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGCCGAGAACCAAC TACAAGACCACGCCCTCCGTGCTGGAATCCGACGGCTCCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGAGGTCTGCACA ACCCTACACGCAGAAGACCTCTCCCTGTCCCGGGTTGA
144	TIM3.2 (17C3) IgG1.1f 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTCTCCTG CAAGGCATCTGGATACACTTTCACAGCTACTATATGCAGTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAG GGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAACCTAGGGGTGATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCAG GGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG ATCTGAGGACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATTTCTATGGTTCCGGGAACTACTACTACG GTATGGAGCTCTGGGGCCAAAGGACACGGTCAACGTCTCCTCAGTATAGCACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCTTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACAGCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCACGACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAGAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGAATCCGACGGCTCCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGACCTCTCCCTGTCCCGGGTTGA
145	9F6 IgG1.1f 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGACGCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATACTACGCAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCAATGAACAGCCTGAG AGTCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACG GTATGGAGCTCTGGGGCCAAAGGACCGCGGTCAACGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCTTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAAGCCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAGAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGAATCCGACGGCTCCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGACCTCTCCCTGTCCCGGGTTGA
146	TIM3.4 (3G4) IgG1.1f 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGACGCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTATTAGTACTAGTGGTAGTATCATATCTACGCAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGATCTGCAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCTGTGATTACTGTGCGAGAGAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCTTACTACT ACGGTATGGAGCTCTGGGGCCAAAGGACACGGTCAACGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCGAACCCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGG TGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTG CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAA GGTGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCAC CTGAAGCCGAAGGGGCCCGCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATC TCCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGTACATA

SEQ ID	描述	序列
		ACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAA AGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTGAGCCTGACCTGCCGTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTT CCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGTCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCGGGTTGA
147	TIM3.9 (17C8) IgG1.1f 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTATTAGTAGTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAATCACTGTATCTGCAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACG GTATGGACGTCTGGGGCCAAGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCGAACCCTGACGGTGTGCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACAGCGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACACACATGCCACCGTGCCGAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCTGAGTCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCAGCGTCTGCACAGGACTGCTGCAAGTGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAGAACAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGTGGTCAAGTGGCTCTTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGTCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCGGGTTGA
148	TIM3.5 (13A3) IgG1.3f 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCGACCCCGGAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCCCGCAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACCGTGACTACGCCCACT GGTTGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAACGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCGAACCCTGACGGTGTGCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACACACATGCCACCGTGCCGAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCAGCGTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAGAACAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGTGGTCAAGTGGGAGAGCAAT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGTCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCGGGTAAATGA
149	8B9 IgG1.3f 重链	AGGTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTGC ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCACTACTGGAACCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGG ACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGGAAAGCACCACCAATCAATCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCT GCGGACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCC AGGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCGGTCTTCCCTTGGCACCCT CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA CCGGTGACGGTGTGCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCC AGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGAGAGAGATTGAGCCC AAATCTTGTGACAAAACACACATGCCACCGTGCCGAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTC AGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCAAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCA CGTCTCACCCTCCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACA AAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAG

SEQ ID	描述	序列
		GTGTACACCCTGCCCCATCCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACGCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACT ACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCCTG GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA CCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
150	TIM3.6 (8C4) IgG1.3f 重链	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGG GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACACTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCAGTAGACAGTCCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGC AGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGATACGGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGCTTCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCTAGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCT TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC CAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGCT CAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTGACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAATACAGCACGTACCGTGGTCA GCGTCTCAGCGTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTAACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTGAGCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA TACAAGACCACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCCT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
151	TIM3.2 (17C3) IgG1.3f 重链	CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAACCTGGGGCTCAGTGAAGGTCTCCTG CAAGGCATCTGGATACACTTTCACAGCTACTATATGCACTGGGTGGCAGAGGCCCTGGACAAG GGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAACCTAGGGGTGATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCAG GGCAGAGTCACCATGACAGGGGACAGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCCTGAG ATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTTCTATGGTTCGGGAACTACTACTACG GTATGGAGCTCTGGGGCCAAAGGACACGGTCAACGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCTAGCGGCCCTGACCAGCGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCACCGTGCCACGACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGAGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCAATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
152	9F6 IgG1.3f 重链	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCCTCTGGATTACCTTCACTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCACTCATAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCAATGAACAGCCTGAG AGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACG GTATGGAGCTCTGGGGCCAAAGGACCGCGGTCAACGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTTGTGACAAAATCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT

SEQ ID	描述	序列
153	TIM3.4 (3G4) IgG1.3f 重链	<p>GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA</p> <p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGGAAGGGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTAGTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCCCTACTACTACGGTATGGACGCTCTGGGGCCAAGGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGCCCAATCGGCTCTCCCCCTGGCACCCTCTCCAAGAGCAGCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCTGACCAAGCGGGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTGGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGGTCACTCTTCCCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCCGGGGAGGAGCAGTACACAGCAGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGATACAAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCATCGAGAAAACCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA</p>
154	TIM3.9 (17C8) IgG1.3f 重链	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTAGTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACACCGGTCAACCTCTCCTCCTCAGCAGGCTGGTGCACCTGCTGTCCCCCTGGCACCCTCTCCAAGAGCAGCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCTGACCAAGCGGCGTGCACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGGCTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGTGAACCAAGCAAGTCAAGCCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTCTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA</p>
155	TIM3.5 (13A3) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	<p>CAGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACTGGTTCCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCTGACCAAGCGGCTGCACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCACTCTTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGTCAAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTCTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA</p>

SEQ ID	描述	序列
156	8B9 IgG1.3f 重链 (无C末端K)	<p>TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA</p> <p>AGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGC</p> <p>ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCACTACTGGAAGTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGG</p> <p>ACTGGAGTGGATTGGGTATATCATTACAGTGGAAAGCACCACCAATTCCTCCCTCAAGAGTC</p> <p>GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCT</p> <p>GCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCA</p> <p>AGGGACCACGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTT</p> <p>CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA</p> <p>CCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCCGGCTGTCT</p> <p>ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCC</p> <p>AGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGTGGCAAGAGAGTGGAGCCC</p> <p>AAATCTTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTC</p> <p>AGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAT</p> <p>GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG</p> <p>GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCAG</p> <p>CGTCTCACCCTGCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACA</p> <p>AAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAG</p> <p>GTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTACGCTGACCTGCCTGGT</p> <p>CAAAGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAAGGAGTGAACACT</p> <p>ACAAGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCCTG</p> <p>GACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAA</p> <p>CCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA</p>
157	TIM3.6 (8C4) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG</p> <p>CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGG</p> <p>GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACACTGGGAGCACCACCAACACCCCTCCCTCAAGAGT</p> <p>CGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGC</p> <p>AGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGATACGGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC</p> <p>AAGGGACCACGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC</p> <p>TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA</p> <p>ACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCT</p> <p>TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC</p> <p>CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACCAAGTGGCAAGAGAGTTGAGCC</p> <p>CAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGT</p> <p>CAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACA</p> <p>TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT</p> <p>GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCA</p> <p>CGCTCTCACCGTCTCTGACACGAGTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAAC</p> <p>AAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACA</p> <p>GGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTACGCTGACCTGCCTGG</p> <p>TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAC</p> <p>TACAAGACCACGCTCCCGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCCTG</p> <p>GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA</p> <p>ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA</p>
158	TIM3.2 (17C3) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	<p>CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGGTCTCTTG</p> <p>CAAGGCATCTGGATACACTTCCACGACTACTATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAG</p> <p>GGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAACCTAGGGGTGATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCAG</p> <p>GGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCAGCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAG</p> <p>ATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTTCTATGGTTCCGGGAACTACTACTACG</p> <p>GTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG</p> <p>GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT</p> <p>CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC</p> <p>ACACCTTCCGGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC</p> <p>TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACCAAGGT</p> <p>GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG</p> <p>AAGCCGAAGGGGCCCGTCACTCTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCC</p> <p>CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA</p> <p>CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA</p> <p>GCACGTACCGTGTGGTACGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC</p> <p>AAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGG</p> <p>GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG</p> <p>TCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT</p> <p>GGGCAGCCGGAGAACCACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCT</p> <p>CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA</p> <p>TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA</p>
159	9F6 IgG1.3f	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTCTG

SEQ ID	描述	序列
160	重链 (无C末端K)	TGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCAGTGTCTTCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACG GTATGGACGTCTGGGGCCAAGGACCGCGGTACCCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCGTCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCTCATCGAGAAACCATCTCCAAGGCCAAGG GCAGCCCGGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
	TIM3.4 (3G4) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCAGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCTACTACT ACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACACGGTCAACCTCTCCTCAGTACACAGCCAGGCGCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCT GGTCAAGGACTACTTCCCGAACCCTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTG CCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCAC CTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCT TCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAGCTCTCCCTGTCAAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACA ACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCTCATCGAGAAACCATCTCCAAGGCCAA AGGGCAGCCCGGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAAC AGGTCAAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCT CCTCTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
	TIM3.9 (17C8) IgG1.3f 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCAGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACG GTATGGACGTCTGGGGCCAAGGACACGGTCAACCTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCTCATCGAGAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCGGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
205	TIM3.10 (13A3) IgG1.1f (N60Q)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACTACTACCAACCGTCCCTC

SEQ ID	描述	序列
	重链	AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCTCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCGAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCGCTGTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
206	TIM3.11 (13A3) IgG1.1f (N60S) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACTACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCTCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCGCTGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCGAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCGCTGTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
207	TIM3.12 (13A3) IgG1.1f (N60A) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACGACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCTCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCGAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCGCTGTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
208	TIM3.13 (13A3) IgG1.1f (DI01E) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCTCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCGAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCGCTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA

SEQ ID	描述	序列
		GGTTCGAACCCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGGCTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTGCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCGAGAAGGCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
209	TIM3.14 (13A3) IgG1.1f (P102V) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTCGACGTATGGGCCACGAGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCCACGAAGGCCAAGGT GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTGCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCGAGAAGGCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
210	TIM3.15 (13A3) IgG1.1f (P102Y) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTGCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCGAGAAGGCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
211	TIM3.16 (13A3) IgG1.1f (P102L) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTGCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCGAGAAGGCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA

SEQ ID	描述	序列
212	TIM3.17 (13A3) IgG1.1f (N60Q/P102Y) 重链	CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTCTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAAGCAGCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACAGGAGTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGACGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGAAGTCCGACGGCTCTTCTTCCCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCTCAGTAGACCAAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTCTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAAGCAGCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGACGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGAAGTCCGACGGCTCTTCTTCCCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
355	TIM3.18 (13A3) IgG1.1f (N60Q/D101E) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCCGCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGAGACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTCGAACCTTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCTCAGTAGGACCAAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTCTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAAGCAGCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGACGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGAAGTCCGACGGCTCTTCTTCCCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
213	TIM3.8 (8B9) IgG1.1f (S61P) 重链	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCACTACTGGAAGTGGATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGG GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGGAAAGCACCACTACAATCCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCAGTAGACAGTCCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGC TGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCC AAGGGACACGGTCACCGTCTCTCAGTAGCACCAAGGGCCATCGGCTTCCCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGGA ACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC

SEQ ID	描述	序列
		CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC CAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGGT CAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGAGCCCTGAGGTCA TGGCTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACCGTGTGGTCA GCGTCTCACCCTCTGCACAGGAGTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAAAAACCTCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGCCGAGAACAAAC TACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
214	TIM3.7 (9F6) IgG1.1f (A108T) 重链	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTTG TGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCAATCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGCTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCAATGAACAGCCTGAG AGTGCAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTAGC GTATGGAGCTCTGGGGCAAGGACACGGTCAACCTCTCTCAGTAGCACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACAGCGGCTGC ACACCTTCCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCGCGGGAGGAGCAACCAAGGT GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
215	TIM3.10 (13A3) IgG1.1f (N60Q) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTGTG GACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAACCTCTCTCAGTAGCACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGGAACCTCAGCGCCCTGACAGCGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCTGCCACGCTG AAGCCGAAGGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
216	TIM3.11 (13A3) IgG1.1f (N60S) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACTCACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAACCTCTCTCAGTAGCACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGGAACCTCAGCGCCCTGACAGCGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG

SEQ ID	描述	序列
217	TIM3.12 (13A3) IgG1.1f (N60A) 重链 (无C末端K)	AAGCCGAAGGGGCCCCGTCAgTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTGCATACGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGGTGGTCAgCCTCCTCACCCTGTCACACGAGGACTGGCTGAATGGCAAGGATAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCACGCAATCTCGCGTGGATGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCGCTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCTCTCACTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGGTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACTACTACGACCTGCTCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACCGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACCTAGGGGCCCTGACACGGCGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCTCTCAGCAGCTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCACGAAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCCAAGCACTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCAgTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTGCATACGCTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGGTGGTCAgCCTCCTCACCCTGTCACACGAGTGGCTGAATGGCAAGGATAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCACGCAATCTCGCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCGCTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
218	TIM3.13 (13A3) IgG1.1f (D101E) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCTCTCACTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGGTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACCGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGAACCTTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACCTAGGGGCCCTGACACGGCGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCTCTCAGCAGCTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCACGAAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCCAAGCACTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCAgTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTGCATACGCTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGGTGGTCAgCCTCCTCACCCTGCTGACACGAGTGGCTGAATGGCAAGGATAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCACGCAATCTCGCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCGCTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
219	TIM3.14 (13A3) IgG1.1f (P102V) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCTCTCACTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGGTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACCGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGAACCTTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAACCTAGGGGCCCTGACACGGCGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCTCTCAGCAGCTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCACGAAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCCAAGCACTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCAgTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTGCATACGCTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGGTGGTCAgCCTCCTCACCCTGCTGACACGAGTGGCTGAATGGCAAGGATAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCACGCAATCTCGCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCGCTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA

SEQ ID	描述	序列
220	TIM3.15 (13A3) IgG1.1f (P102Y) 重链 (无C末端K)	CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGTCCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
		CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACAGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCGGCTGC ACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCTGCCCGACGCTCC AAGCCGAAGGGGCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGTCCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
		CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACAGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTTCGACTATGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCGGCTGC ACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCTGCCCGACGCTCC AAGCCGAAGGGGCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGTCCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
221	TIM3.16 (13A3) IgG1.1f (P102L) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACAGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTTCGACTATGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCGGCTGC ACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCTGCCCGACGCTCC AAGCCGAAGGGGCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGTCCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
222	TIM3.17 (13A3) IgG1.1f (N60Q/P102Y) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACAGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCGGCTGC ACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCTGCCCGACGCTCC AAGCCGAAGGGGCCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC

SEQ ID	描述	序列
		AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGGTCTTCTTCCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
356	TIM3.18 (13A3) IgG1.1f (N60Q/D101E) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACCGGTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTCGAACCTCGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCGGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGT AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGGTCTTCTTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
223	TIM3.8 (8B9) IgG1.1f (S61P) 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTGCTACTGGAACCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGG GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGGAAAGCACCAACTACAACTCCCTCAAGCTGAG CGAGTCACCATATCAGTAGACAGCTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGC TGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCAACCTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCTCGGTCTTCCCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC CAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGT CAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCA GCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA GGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGCGGAGAACAA TACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
224	TIM3.7 (9F6) IgG1.1f (A108T) 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGACGCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCGAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCAAAATGAACAGCCTGAG AGTCAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACG GTATGGACGTCTGGGGCCAAGGACACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCGGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG

SEQ ID	描述	序列
		TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACTACAAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGGCTCCTTCTTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCAATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
225	TIM3.10 (13A3) IgG1.3f (N60Q) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACT GGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGAGTGAATGCCAAGAACCCAGG AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCAATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
226	TIM3.11 (13A3) IgG1.3f (N60S) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACTCACCCTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTG GGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCAATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
227	TIM3.12 (13A3) IgG1.3f (N60A) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACGACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACT GGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCAATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA

SEQ ID	描述	序列
		CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
228	TIM3.13 (13A3) IgG1.3f (D101E) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGAACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCACGACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAGAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGTACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACCACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGAATCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
229	TIM3.14 (13A3) IgG1.3f (P102V) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGACGTATGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCACGACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAGAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGTACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACCACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGAATCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
230	TIM3.15 (13A3) IgG1.3f (P102Y) 重链	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACACACGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCACGACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAGAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGTACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACCACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGAATCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA

SEQ ID	描述	序列
231	TIM3.16 (13A3) IgG1.3f (P102L) 重链	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACT GGTTCGACCTATGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTCTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTCCCATGACGACCTG AAGCCGAAGGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAAGAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA</p>
232	TIM3.17 (13A3) IgG1.3f (N60Q/P102Y) 重链	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACCGTGACTACGCCACT GGTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTCTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTCCCGCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAAGAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA</p>
357	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) 重链	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACT GGTTCGAACCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGGACCAAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCT TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTCTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTCCCGCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGGCCCCGTCACTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAAGAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA</p>
233	TIM3.8 (8B9)	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTCTACTACTGGAAGTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGG</p>

SEQ ID	描述	序列
	IgG1.3f (S61P) 重链	GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGGAAAGCACCACCACTACAATCCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGC TGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCC AAGGGACCCAGGTCAACGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCTCCCTGGCAGCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAAGGCCAGCAACACCAAGGTGGACCAAGAGAGTTGAGCC CAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCACCGTGCACAGCCTGAAGCCGAAGGGGCCCGGT CAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA TGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAAGTGGTACGTGGAGCGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCGTGTGGTCA GCGTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGACCTGGTGG TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAACTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGAGAAGAGCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
234	TIM3.7 (9F6) IgG1.3f (A108T) 重链	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTG TGACGCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCAATCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTAGCAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCAATGAACAGCCTGAG AGTCCAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTAGC GTATGGAGCTCTGGGGCCAAAGGACACGGTCAACGCTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCTCCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGCCCTGACCAGCGGCTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCAGCTGCCAGCCAGCCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
235	TIM3.10 (13A3) IgG1.3f (N60Q) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACT GGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAACGCTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGGCCCTGACCAGCGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCACCCTGCCAGCAGCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAAGTCTTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGAGCGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
236	TIM3.11 (13A3) IgG1.3f (N60S)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACT GGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAACGCTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGCGGCCCTGACCAGCGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCACCCTGCCAGCAGCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAAGTCTTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGAGCGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGG TCAGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA

SEQ ID	描述	序列
	重链 (无C末端K)	GACCGCCGACAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAAGCGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCGACACCTG AAGCCGAAGGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCTGATCTCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCAGCGTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCGGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGGA
237	TIM3.12 (13A3) IgG1.3f (N60A) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACGACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCGACACCTG AAGCCGAAGGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCTATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCAGCGTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCGGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGGA
238	TIM3.13 (13A3) IgG1.3f (D101E) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGAACCCCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGTACGACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCGACACCTG AAGCCGAAGGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCTATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCAGCGTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCGGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGGA
239	TIM3.14 (13A3) IgG1.3f (P102V) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACT GGTTTCGACCTTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGTACGACCAAGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCGACACCTG AAGCCGAAGGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCTATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCAGCGTCTGCACAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCGGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGGA

SEQ ID	描述	序列
		GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGAGCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACAGCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCTCCTCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
240	TIM3.15 (13A3) IgG1.3f (P102Y) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACCGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCTCCTCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
241	TIM3.16 (13A3) IgG1.3f (P102L) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACCGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGACCTATGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCTCCTCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
242	TIM3.17 (13A3) IgG1.3f (N60Q/P102Y) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCCTGTCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACAGACCGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGACTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGGAGAACACTACAAGACCACGCTCCTCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA

SEQ ID	描述	序列
		ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCAGCTTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCTCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGGTGGACTCCGACGCGAGGGCTCTTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGGA
358	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACACAGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGAACCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAACCTCTCCTCAGTACGCTGGTGAACCTGGCTG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTGGCTG TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCAGCTTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCTCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGGTGGACTCCGACGCGCTCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGGA
374	TIM3.18 (13A3) IgG1.3f (N60Q/D101E) (T168C) 重链 (无C末端K)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAGTTACTACTGGGGCTGGATTCCGCCAGCCCCAG GGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACCAACCGTCCCTC AAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGT GACCGCCGACACAGGCTGTGATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGAATACGCCCACT GGTTCGAACCTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAACCTCTCCTCAGTACGACCAAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTGGCTG TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTACACATGCCACCGTGCCAGCAGCTTG AAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAGGACACCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCTCATCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGGTGGACTCCGACGCGCTCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGGA
243	TIM3.8 (8B9) IgG1.3f (S61P) 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCTGTCCCTCACCTG CACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTGCTACTGGAACCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGG GACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGAAGCACCACCTACAATCCCTCCCTCAAGAGT CGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGC TGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCC AAGGGACACCGGTCAACGTCTCTCAGCTAGCACCAGGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCC TCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC

SEQ ID	描述	序列
		CAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCACGACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGT CAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTGACA TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACCAACAGCACGTACCCGTGTGGTCA GCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCCACA GGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGACGCTGACCTGCCTGG TCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGCGCGGAGAACAC TACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTCTCTATAGCAAGCTACCGGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
244	TIM3.7 (9F6) IgG1.3f (A108T) 重链 (无C末端K)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGT TGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTACATGAGCTGGATCCCGCAGGCTCCAGGGAAGG GGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACCGAGACTCTGTGAAG GGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCAAAATGAACAGCCTGAG AGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACG GTATGGACGTCTGGGGCCAAAGGACACGGTCACCGTCTCTCAGTAGCACCAGGGGCCATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGGCC TCCAGCAGCTTGGGCAACCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACAGTGGCTGCGCCAGCAGCTG AAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCCAAGGACACCCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTGCAGCTCTCACCCTCTGCACACAGGACTGGCTGAATGGCAAGCAGTAC AAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCCAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAT GGGCAGCCGAGAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGCTCCGACGCTCTTCTCTCT CTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGA TGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA
162	TIM3.5 (13A3), TIM3.2 (17C3), TIM3.4 (3G4) IgG1 轻链	GAAATTGTGTTGACGAGTCTCCAGGACCCCTGTCTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCCTCTC CTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGG CTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACTGGC AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTGCACTGTA TTAAGTGTGACGAGTATGGTAGCTCACCAGTACCTTCCGGCAAGGGACAGCAGTGGAGATTAAAC GTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTCTTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC GCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGA TAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCT ACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG
163	8B9, TIM3.6 (8C4), TIM3.9 (17C8) IgG1 轻链	GAAATTGTGTTGACGAGTCTCCAGGACCCCTGTCTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCCTCTC CTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGG CTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACTGGC AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTGCACTGTA TTAAGTGTGACGAGTATGGTAGCTCACCAGTACCTTCCGGCAAGGGACAGCAGTGGAGATTAAAC GTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTCTTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC GCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGA TAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCT ACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG
165	9F6 VK1 IgG1 轻链	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCAC TTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAGCTC CTAAGCTCCTGATCTATGATGCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTGAGCGGAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGAACCTTATTA CTGTCAACAGTTTAAAGTTACCTCGGACGTTCCGGCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAACGTA CGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTCTTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCC TCTGTTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAA CGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTCGCGAA GTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG
166	9F6 VK2 IgG1 轻链	GAAATTGTGTTGACGAGTCTCCAGGACCCCTGTCTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCCTCTC CTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGG CTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACTGGC

SEQ ID	描述	序列
		AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTA TTACTGTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTA CGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCC TCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAA CGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
164	9F6 VK3 IgG1 轻链	GAAATTGTGTTGACGCACTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCTCTC CTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGG CTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGC AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTA TTACTGTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC GCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGA TAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCT ACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

[0550] 除非另外指出,本公开内容的实践将使用本领域技术的范围之内的细胞生物学、细胞培养、分子生物学、转基因生物学、微生物学、重组DNA和免疫学的常规技术。文献中充分解释此类技术。例如,参见Sambrook等人,编辑(1989)Molecular Cloning A Laboratory Manual(第2版;Cold Spring Harbor Laboratory Press);Sambrook等人,编辑(1992)Molecular Cloning:A Laboratory Manual,(Cold Springs Harbor Laboratory,NY);D.N.Glover编辑,(1985)DNA Cloning,第I和II卷;Gait,编辑(1984)Oligonucleotide Synthesis;Mullis等人美国专利号4,683,195;Hames和Higgins,编辑(1984)Nucleic Acid Hybridization;Hames和Higgins,编辑(1984)Transcription And Translation;Freshney(1987)Culture Of Animal Cells(Alan R.Liss,Inc.);Immobilized Cells And Enzymes(IRL Press)(1986);Perbal(1984)A Practical Guide To Molecular Cloning;the treatise,Methods In Enzymology(Academic Press,Inc.,N.Y.);Miller和Calos编辑(1987)Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells,(Cold Spring Harbor Laboratory);Wu等人,编辑,Methods In Enzymology,第154和155卷;Mayer和Walker,编辑(1987)Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology(Academic Press,London);Weir和Blackwell,编辑,(1986)Handbook Of Experimental Immunology,卷I-IV;Manipulating the Mouse Embryo,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,N.Y.,(1986););Crooks,Antisense drug Technology:Principles, strategies and applications,第2版CRC Press(2007)和Ausubel等人(1989)Current Protocols in Molecular Biology(John Wiley和Sons,Baltimore,Md.)。

[0551] 以上引用的所有参考文献以及本文引用的所有参考文献都通过引用整体并入本文。

具体实施方式

本发明还涉及以下实施方案:

1.分离的抗体(例如人抗体)或其抗原结合部分,其结合人含有T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域-3(TIM3)并展示出以下特性:

- (a) 结合可溶性人TIM3;
- (b) 结合膜结合的人TIM3;

- (c) 诱导或增强T细胞活化;和任选地:
- (d) 结合可溶性食蟹猴TIM3;和
- (e) 结合膜食蟹猴TIM3。
- 2. 实施方案1的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体刺激抗肿瘤免疫应答。
- 3. 实施方案1或2的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体刺激抗原特异性T细胞应答。
- 4. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体增加表达TIM3的T细胞中的IFN- γ 产生。
- 5. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体增加T细胞增殖。
- 6. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体不结合Fc受体,或其中所述抗体缺乏效应子功能。
- 7. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中如通过Biacore所测量的,所述抗体以10nM或更低的 K_D 结合可溶性人TIM3。
- 8. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中如通过Biacore所测量的,所述抗体以100nM或更低的 K_D 结合可溶性食蟹猴TIM3。
- 9. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体是抑制通过TIM3的负细胞(例如T细胞)信号传导的拮抗剂抗体。
- 10. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中如通过流式细胞术所测量的,所述抗体以0.1或1 μ g/mL或更低的 EC_{50} 结合膜结合的人TIM3。
- 11. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中如通过Scatchard分析所测量的,所述抗体以1nM或更低的 K_D 结合膜结合的人TIM3。
- 12. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中如通过流式细胞术所测量的,所述抗体以1 μ g/mL或更低的 EC_{50} 结合膜结合的食蟹猴TIM3,或其中如通过Scatchard分析所测量的,所述抗体以1nM或更低的 K_D 结合膜结合的食蟹猴TIM3。
- 13. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分包含重链CDR1、CDR2和CDR3以及轻链CDR1、CDR2和CDR3,其中所述重链CDR3包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128或SEQ ID NO:129。
- 14. 实施方案13的抗体或其抗原结合部分,其中所述重链CDR1包含X1、X2、X3、X4、Y、X5和X6,并且其中X1是S或无,X2是R或无,X3是S、R或D,X4是Y或H,X5是W或M,且X6是G、N、S或H。
- 15. 实施方案13或14的抗体或其抗原结合部分,其中所述重链CDR1包含X1、Y、Y、M和X2,并且其中X1是S或D且X2是H或S。
- 16. 实施方案13或14的抗体或其抗原结合部分,其中所述重链CDR1包含R、X1、Y、W和X2,并且其中X1是H或Y且X2是N或S。
- 17. 实施方案13-16中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述重链CDR2包含X1、I、X2、X3、X4、G、X5、X6、X7、X8、Y、X9、X10、X11、X12、X13和X14,并且其中X1是S、Y、I或F,X2

是Y、H、N或S,X3是Y、P、G、T或S,X4是S、T、R或G,X5是F、S或D,X6是S、T或I,X7是I或无,X8是Y、N或I,X9是N、Q、S或A,X10是P、S、Q或D,X11是S或K,X12是L、F或V,X13是K或Q,且X14是S或G。

18. 实施方案13-17中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述重链CDR2包含Y、I、H、Y、X1、G、S、T、N、Y、N、X2、S、L、K和S,并且其中X1是S或T且X2是S或P。

19. 实施方案13-17中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述重链CDR2包含F、I、S、X1、X2、G、S、X3、I、Y、Y、A、D、S、V、K和G,并且其中X1是G、T或S,X2是G或S,且X3是T或I。

20. 实施方案13-17中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述重链CDR2包含I、I、N、P、R、G、D、S、I、I、Y、A、Q、K、F、Q和G。

21. 实施方案13-20中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65。

22. 实施方案13-21中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:66或SEQ ID NO:67。

23. 实施方案13-22中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述轻链CDR3包含SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:71。

24. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体或其抗原结合部分包含重链CDR1、CDR2和CDR3以及轻链CDR1、CDR2和CDR3,其中

(a) 所述重链CDR1选自SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44和SEQ ID NO:45;

(b) 所述重链CDR2选自SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124和SEQ ID NO:125;

(c) 所述重链CDR3选自SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:129;

(d) 所述轻链CDR1包含SEQ ID NO:64或SEQ ID NO:65;

(e) 所述轻链CDR2包含SEQ ID NO:66或SEQ ID NO:67;和

(f) 所述轻链CDR3包含SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70或SEQ ID NO:71。

25. 分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3,所述抗体或其抗原结合部分包含:

(a1) 分别包含SEQ ID NO:41、46、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a2) 分别包含SEQ ID NO:41、122、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a3) 分别包含SEQ ID NO:41、123、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a4) 分别包含SEQ ID NO:41、124、53的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a5) 分别包含SEQ ID NO:41、46、126的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含

SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a6) 分别包含SEQ ID NO:41、46、127的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a7) 分别包含SEQ ID NO:41、46、128的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a8) 分别包含SEQ ID NO:41、46、129的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a9) 分别包含SEQ ID NO:41、122、128的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(a10) 分别包含SEQ ID NO:41、122、126的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、68的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(b1) 分别包含SEQ ID NO:42、47、54的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、69的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(b2) 分别包含SEQ ID NO:42、125、54的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、69的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(c) 分别包含SEQ ID NO:43、48和55的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(d) 分别包含SEQ ID NO:44、49和56的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(e) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(f) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和71的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(g1) 分别包含SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:65、67和70的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(g2) 分别包含SEQ ID NO:45、50、57的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、71的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(g3) 分别包含SEQ ID NO:45、50、57的重链可变区CDR1、CDR2和CDR3,和分别包含SEQ ID NO:64、66、69的轻链可变区CDR1、CDR2和CDR3;

(h) 分别包含SEQ ID NO:45、51和58的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列;

(i) 分别包含SEQ ID NO:45、52和59的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别包含SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

26. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:41、46和53的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

27. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:42、47和54的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

28. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:43、48和55的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

29. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:44、49和56的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

30. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

31. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:64、66和71的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

32. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:45、50和57的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:65、67和70的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

33. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:45、51和58的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:64、66和68的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

34. 实施方案25的抗体或其抗原结合部分,其中所述抗体包含分别含有SEQ ID NO:45、52和59的重链CDR1、CDR2和CDR3序列,和/或分别含有SEQ ID NO:64、66和69的轻链CDR1、CDR2和CDR3序列。

35. 分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3并包含重链和轻链可变区,其中所述重链可变区包含与选自SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121和364的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同一性的氨基酸序列。

36. 分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3并包含重链和轻链可变区,其中所述轻链可变区包含与选自SEQ ID NO:60、61、62和63的氨基酸序列具有至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同一性的氨基酸序列。

37. 分离的抗体或其抗原结合部分,其结合人TIM3并与包含VH和VL的参考抗体交叉竞争结合人TIM3,其中所述VH和VL选自:

(a) 包含SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(b) 包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(c) 包含SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(d) 包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸

序列的VL;

(e) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(f) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VL;

(g) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL;

(h) 包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(i) 包含SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(j) 分别包含SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL;

(k) 分别包含SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(l) 分别包含SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(m) 分别包含SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(n) 分别包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(o) 分别包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(p) 分别包含SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(q) 分别包含SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(r) 分别包含SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(s) 分别包含SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;和

(t) 分别包含SEQ ID NO:364所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL。

38. 实施方案37的抗体或其抗原结合部分,其如例如通过本文提供的一种或多种方法所测定的,在与所述参考抗体相同的表位处结合TIM3。

39. 实施方案37或38的抗体或其抗原结合部分,其包含选自以下的VH和VL:

(a) 包含SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(b) 包含SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸

序列的VL;

(c) 包含SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(d) 包含SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(e) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(f) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VL;

(g) 包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL;

(h) 包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(i) 包含SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(j) 分别包含SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL;

(k) 分别包含SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL;

(l) 分别包含SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(m) 分别包含SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(n) 分别包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(o) 分别包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(p) 分别包含SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(q) 分别包含SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(r) 分别包含SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;

(s) 分别包含SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL;和

(t) 分别包含SEQ ID NO:364所示的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL。

40. 实施方案37或38的抗体或其抗原结合部分,其包含VH和VL,所述VH包含选自SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:112、SEQ ID NO:113、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:115、SEQ ID

NO:116、SEQ ID NO:117、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:119和SEQ ID NO:364的氨基酸序列，所述VL包含SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列。

41. 实施方案37或38的抗体或其抗原结合部分，其包含含有SEQ ID NO:35或SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL。

42. 实施方案37或38的抗体或其抗原结合部分，其包含含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL。

43. 实施方案37或38的抗体或其抗原结合部分，其包含含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL。

44. 实施方案37或38的抗体或其抗原结合部分，其包含含有SEQ ID NO:38或SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63或SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VL。

45. 实施方案37或38的抗体或其抗原结合部分，其包含含有SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的VL。

46. 实施方案37或38的抗体或其抗原结合部分，其包含含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的VH和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的VL。

47. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分，其中所述抗体选自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4或其变体。

48. 实施方案47的抗体或其抗原结合部分，其中所述抗体是IgG1抗体。

49. 实施方案47的抗体或其抗原结合部分，其中所述抗体包含无效应子IgG1 Fc。

50. 实施方案49的抗体或其抗原结合部分，其中所述抗体或其抗原结合部分包含含有以下突变的无效应子IgG1 Fc:L234A、L235E、G237A和任选A330S和P331S。

51. 前述实施方案中任一项的抗体或其抗原结合部分，其包含含有选自SEQ ID NO:263-266的氨基酸序列的重链恒定区。

52. 实施方案1-51中任一项的抗体或其抗原结合部分，其中所述抗体或其抗原结合部分是人或人源化抗体。

53. 实施方案1-52中任一项的抗体，其中所述抗体包含：

- (a1) 分别包含SEQ ID NO:301 (或302) 和29的重链和轻链序列；
- (a2) 分别包含SEQ ID NO:1 (或8) 和29的重链和轻链序列；
- (a3) 分别包含SEQ ID NO:15 (或22) 和29的重链和轻链序列；
- (a4) 分别包含SEQ ID NO:303 (或304) 和29的重链和轻链序列；
- (a5) 分别包含SEQ ID NO:72 (或82) 和29的重链和轻链序列；
- (a6) 分别包含SEQ ID NO:92 (或102) 和29的重链和轻链序列；
- (a7) 分别包含SEQ ID NO:305 (或306) 和29的重链和轻链序列；
- (a8) 分别包含SEQ ID NO:73 (或83) 和29的重链和轻链序列；
- (a9) 分别包含SEQ ID NO:93 (或103) 和29的重链和轻链序列；
- (a10) 分别包含SEQ ID NO:307 (或308) 和29的重链和轻链序列；
- (a11) 分别包含SEQ ID NO:74 (或84) 和29的重链和轻链序列；
- (a12) 分别包含SEQ ID NO:94 (或104) 和29的重链和轻链序列；
- (a13) 分别包含SEQ ID NO:309 (或310) 和29的重链和轻链序列；

- (a14) 分别包含SEQ ID NO:75 (或85) 和29的重链和轻链序列;
- (a15) 分别包含SEQ ID NO:95 (或105) 和29的重链和轻链序列;
- (a16) 分别包含SEQ ID NO:311 (或312) 和29的重链和轻链序列;
- (a17) 分别包含SEQ ID NO:76 (或86) 和29的重链和轻链序列;
- (a18) 分别包含SEQ ID NO:96 (或106) 和29的重链和轻链序列;
- (a19) 分别包含SEQ ID NO:313 (或314) 和29的重链和轻链序列;
- (a20) 分别包含SEQ ID NO:77 (或87) 和29的重链和轻链序列;
- (a21) 分别包含SEQ ID NO:97 (或107) 和29的重链和轻链序列;
- (a22) 分别包含SEQ ID NO:315 (或316) 和29的重链和轻链序列;
- (a23) 分别包含SEQ ID NO:78 (或88) 和29的重链和轻链序列;
- (a24) 分别包含SEQ ID NO:98 (或108) 和29的重链和轻链序列;
- (a25) 分别包含SEQ ID NO:317 (或318) 和29的重链和轻链序列;
- (a26) 分别包含SEQ ID NO:79 (或89) 和29的重链和轻链序列;
- (a27) 分别包含SEQ ID NO:99 (或109) 和29的重链和轻链序列;
- (a28) 分别包含SEQ ID NO:319 (或320) 和29的重链和轻链序列;
- (a29) 分别包含SEQ ID NO:349 (或350) 和29的重链和轻链序列;
- (a30) 分别包含SEQ ID NO:351 (或352) 和29的重链和轻链序列;
- (a31) 分别包含SEQ ID NO:353 (或354) 和29的重链和轻链序列;
- (b1) 分别包含SEQ ID NO:321 (或322) 和30的重链和轻链序列;
- (b2) 分别包含SEQ ID NO:2 (或9) 和30的重链和轻链序列;
- (b3) 分别包含SEQ ID NO:16 (或23) 和30的重链和轻链序列;
- (b4) 分别包含SEQ ID NO:323 (或324) 和30的重链和轻链序列;
- (b5) 分别包含SEQ ID NO:80 (或90) 和30的重链和轻链序列;
- (b6) 分别包含SEQ ID NO:100 (或110) 和30的重链和轻链序列;
- (b7) 分别包含SEQ ID NO:325 (或326) 和30的重链和轻链序列;
- (c1) 分别包含SEQ ID NO:327 (或328) 和30的重链和轻链序列;
- (c2) 分别包含SEQ ID NO:3 (或10) 和30的重链和轻链序列;
- (c3) 分别包含SEQ ID NO:17 (或24) 和30的重链和轻链序列;
- (c4) 分别包含SEQ ID NO:329 (或330) 和30的重链和轻链序列;
- (d1) 分别包含SEQ ID NO:331 (或332) 和29的重链和轻链序列;
- (d2) 分别包含SEQ ID NO:4 (或11) 和29的重链和轻链序列;
- (d3) 分别包含SEQ ID NO:18 (或25) 和29的重链和轻链序列;
- (d4) 分别包含SEQ ID NO:333 (或334) 和29的重链和轻链序列;
- (e1.1) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和32的重链和轻链序列;
- (e1.2) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和33的重链和轻链序列;
- (e1.3) 分别包含SEQ ID NO:335 (或336) 和31的重链和轻链序列;
- (e2) 分别包含SEQ ID NO:5 (或12) 和33的重链和轻链序列;
- (e3) 分别包含SEQ ID NO:19 (或26) 和33的重链和轻链序列;
- (e4) 分别包含SEQ ID NO:337 (或338) 和33的重链和轻链序列;

(e5) 分别包含SEQ ID NO:81 (或91) 和33的重链和轻链序列;
(e6) 分别包含SEQ ID NO:101 (或111) 和33的重链和轻链序列;
(e7) 分别包含SEQ ID NO:339 (或340) 和33的重链和轻链序列;
(f1) 分别包含SEQ ID NO:341 (或342) 和29的重链和轻链序列;
(f2) 分别包含SEQ ID NO:6 (或13) 和29的重链和轻链序列;
(f3) 分别包含SEQ ID NO:20 (或27) 和29的重链和轻链序列;
(f4) 分别包含SEQ ID NO:343 (或344) 和29的重链和轻链序列;
(g1) 分别包含SEQ ID NO:345 (或346) 和29的重链和轻链序列;
(g2) 分别包含SEQ ID NO:7 (或43) 和30的重链和轻链序列;
(g3) 分别包含SEQ ID NO:21 (或28) 和30的重链和轻链序列;或 (g4) 分别包含SEQ ID NO:347 (或348) 和30的重链和轻链序列;
其中所述抗体特异性结合人TIM3。

54. 实施方案1-53中任一项的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体或其抗原结合部分具有以下特性中的一种或多种:

(1) 例如以10nM或更低 (例如, 0.01nM至10nM) 的KD结合可溶性人TIM3, 例如如通过Biacore所测量的;

(2) 例如以100nM或更低 (例如, 0.01nM至100nM) 的KD结合可溶性食蟹猴TIM3, 例如如通过Biacore所测量的;

(3) 例如以1 μ g/mL或更低 (例如, 0.01 μ g/mL至1 μ g/mL) 的EC50结合膜结合的人TIM3, 例如如通过流式细胞术所测量的;

(4) 例如以1nM或更低 (例如, 0.01nM至10nM) 的K_D结合膜结合的人TIM3, 例如如通过Scatchard分析所测量的;

(5) 例如以20 μ g/mL或更低 (例如, 0.01 μ g/mL至20 μ g/mL) 的EC50结合膜结合的食蟹猴TIM3, 例如如通过流式细胞术所测量的;

(6) 例如以1nM或更低 (例如, 0.01nM至10nM) 的K_D结合膜结合的食蟹猴TIM3, 例如如通过Scatchard分析所测量的;

(7) 诱导或增强T细胞活化 (例如, 通过阻断或降低TIM3的抑制作用), 如通过 (i) 表达TIM3的T细胞 (例如, Th1细胞或TIL) 中IFN- γ 产生增加和/或 (ii) 表达TIM3的T细胞 (例如, Th1细胞或TIL) 的增殖增强所证实;

(8) 在混合淋巴细胞反应 (MLR) 测定中刺激T细胞增殖;

(9) 抑制磷脂酰丝氨酸与TIM3的结合, 例如如通过PS-hTIM3“串联”阻断测定所测量的;

(10) 当结合细胞上的TIM3时, 不内化或下调细胞表面TIM3;

(11) 结合人TIM3胞外结构域 (SEQ ID NO:290) 的下列区域之一: (a) CPVFECG (SEQ ID NO:296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO:298); (c) CPVFECG和RIQIPGIMND (分别为SEQ ID NO:296和298); 和 (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO:297);

(12) 相对于与野生型人TIM3的结合, 具有降低的与这样的人TIM3的结合, 在所述人TIM3中氨基酸L48、C58、P59、V60、F61、E62、C63、G64、W78、S80、R81、W83、L84、G86、D87、R89、D104、R111、Q113、G116、M118和D120 (如SEQ ID NO:286 (图20) 中所编号) 中的一个或多

个被另一种氨基酸取代；

(13) 在任一方向或两个方向上与包含以下中任一者的VH和VL结构域的抗体竞争结合人TIM3:13A3、3G4、17C3、17C8、9F6、8B9、8C4、或TIM3.7、TIM3.8、TIM3.10、TIM3.11、TIM3.12、TIM3.13、TIM3.14、TIM3.15、TIM3.16、TIM3.17和TIM3.18；

(14) 如通过HDX-MS所测定的，结合人TIM3区⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367) 和¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368)；

(15) 如通过X射线晶体学所测定的，具有与人TIM3的以下氨基酸的至少5、10、15、20个或全部相互作用的重链和/或轻链可变区：P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120和任选T70和/或I112 (例如在实施例中所所述的；根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号)；和/或

(16) (a) 相对于与野生型人TIM3的结合，具有降低的与这样的人TIM3的结合，在所述人TIM3中氨基酸C58、P59、F61、E62、C63、R111、D120和任选D104和Q113 (根据SEQ ID NO:286 (图20) 编号) 中的1、2、3、4、5、6、7、8或9个被另一种氨基酸取代；(b) 如通过HDX-MS所测定的，结合⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO:367)、¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:368) 和¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO:373)，如实施例中所所述的；和/或(c) 与13A3或TIM3.18.IgG1.3竞争或交叉阻断结合人TIM3。

55. 双特异性分子，其包含与具有第二结合特异性的分子连接的前述实施方案中任一项的抗体。

56. 核酸，其编码实施方案1-54中任一项的抗体或其抗原结合部分的重链和/或轻链可变区。

57. 表达载体，其包含实施方案56的核酸分子。

58. 细胞，其转化有实施方案57的表达载体。

59. 免疫缀合物，其包含与药剂连接的实施方案1-54中任一项的抗体。

60. 组合物，其包含实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物和载体。

61. 试剂盒，其包含实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、或双特异性分子或免疫缀合物和使用说明书。

62. 制备抗TIM3抗体或其抗原结合部分的方法，其包括在实施方案58的细胞中表达所述抗体或其抗原结合部分和从所述细胞中分离所述抗体或其抗原结合部分。

63. 刺激抗原特异性T细胞应答的方法，其包括使T细胞与实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物接触，使得抗原特异性T细胞应答得到刺激。

64. 活化或共刺激效应T细胞的方法，其包括使效应T细胞与实施方案1-55和59中任一项的抗TIM3抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物和CD3接触，其中效应T细胞被激活或共刺激。

65. 增加T细胞中IFN- γ 产生的方法，其包括使T细胞与有效量的实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物接触。

66. 增加T细胞增殖的方法，其包括使细胞与有效量的实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物接触。

67. 增加主体的T细胞中IFN- γ 产生的方法,其包括施用有效量的实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物,以增加从T细胞的IFN- γ 产生。

68. 刺激主体中的TIL活性的方法,其包括向主体施用治疗有效量的实施方案1-54中任一项的抗TIM3抗体。

69. 刺激主体中的免疫应答的方法,其包括向主体施用实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物,使得主体中的免疫应答得到刺激。

70. 实施方案69的方法,其中所述主体具有肿瘤并且针对肿瘤的免疫应答得到刺激。

71. 抑制主体中的肿瘤生长或减小主体中的肿瘤大小的方法,其包括向主体施用实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物,使得主体中的肿瘤生长受到抑制。

72. 治疗癌症的方法,其包括向有此需要的主体施用治疗有效量的实施方案1-55和59中任一项的抗体或其抗原结合部分、双特异性分子或免疫缀合物以治疗癌症。

73. 实施方案72的方法,其中所述癌症选自:膀胱癌、乳腺癌、子宫/子宫颈癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、食道癌、胃肠癌、胰腺癌、结肠直肠癌、结肠癌、肾癌、头颈癌、肺癌、胃癌、生殖细胞癌、骨癌、肝癌、甲状腺癌、皮肤癌、中枢神经系统肿瘤、淋巴瘤、白血病、骨髓瘤、肉瘤和病毒相关的癌症。

74. 实施方案72或73所述的方法,其中所述癌症是转移性癌症、难治性癌症或复发性癌症。

75. 实施方案67-74中任一项的方法,其还包括施用一种或多种另外的治疗剂。

76. 实施方案75的方法,其中所述另外的疗法是抗PD-1抗体、抗LAG-3抗体、抗CTLA-4抗体、抗GITR抗体或抗PD-L1抗体。

77. 检测样品中含有T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域-3(TIM3)的存在的方法,其包括在允许实施方案1-54中任一项的抗体或其抗原结合部分与TIM3之间形成复合物的条件下使样品与所述抗体或其抗原结合部分接触,和检测复合物的形成。

[0552] 提供下述实施例仅为了举例说明而不是为了限制。

实施例

[0553] 实施例1:人抗TIM3抗体的鉴定

利用人TIM-3转染的HEK-293人细胞的质膜部分免疫人IgG转基因(KM)小鼠。将来自所有免疫小鼠的淋巴结细胞融合到SP2/0融合伴侣。首先使用高通量测定筛选杂交瘤上清液中人IgG抗体的存在。然后通过人TIM-3转染细胞上的FACS结合测定抗原特异性。简言之,进行47次融合,鉴定3935个IgG阳性克隆,其中44个通过ELISA被鉴定为对hTIM3呈阳性,并且通过hTIM3 FACS发现这些中126个为阳性。在这些中,通过多种方法进一步分析了117个克隆(或抗体):(1)通过Biacore进行的表位结合;(2)TIM3结合TIM-3转染的细胞系(293-TIM3)以测定EC₅₀;(3)Th1测定(如下文进一步描述);和(4)TIL测定(如下文进一步描述)。在这117个中,由于具有想要的特征,选择7个表达完全人抗人TIM3抗体的杂交瘤:13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8。在图1-7中提供了这些杂交瘤产生的抗体的可变结构域的氨基

酸和编码这些可变结构域的核苷酸序列,并且在图13中提供了CDR、可变区和重链和轻链以及其同种型的SEQ ID NO (参见具有杂交瘤名称的行)。杂交瘤和由其分泌的抗体具有相同的名称(例如,13A3)。

[0554] 还在宿主细胞中重组表达包含抗体13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的CDR和/或可变结构域的抗体。重组抗体在本文中以名称“TIM3.2”至“TIM3.18”被提及。当以其名称“TIM3.2”至“TIM3.18”提及这些重组抗体中任何抗体时,未提及任何具体的恒定区,即,抗体TIM3.2至TIM3.18可能具有任何想要的恒定区,例如在图13中显示的那些。

[0555] CDR和可变结构域在以下背景中表达:无效应子IgG1恒定区(同种异型“f”),其包含取代L234A、L235E、G237A、A330S和P331S(“IgG1.1f”);和IgG1.3f(无效应子IgG1恒定区(同种异型“f”)),其包含取代L234A、L235E、G237A,即其仅因不具有A330S和P331S取代而不同于IgG1.1f。CDR和可变区还可以用于IgG4,例如IgG4P(即,具有“S228P”取代的IgG4)的背景中。这些抗体的某些CDR和构架区也已经被突变。具体而言,13A3和8B9的VHCDR2,13A3和VHFR4的VHCDR3已经被突变。在图13、表1和序列表中提供了已经产生的IgG1.1f和IgG1.3f抗体和可以制备的其他抗体的列表。重组表达的抗体包括在下文实施例中描述的那些,以及已经表达为IgG1.1f抗体的抗体3G4、8C4、9F6、8B9、17C8、5D6。

[0556] 分别在图8A和9A中提供了抗体13A3、8B9、8C4、17C3、9F6、3G4和17C8的重链和轻链可变区的序列比对。分别在图8B和9B中提供了VH和VL区序列命名。在图10中提供了野生型和突变13A3 VH链的序列比对。在图11中提供了野生型和突变9F6 VH链的序列比对。在图12中提供了野生型和突变8B9 VH链的序列比对。

[0557] 实施例2:人抗TIM3抗体的表征

测定所选抗TIM3抗体与表达TIM3的细胞的结合。图14A显示了多种抗TIM3抗体与人TIM3转染的细胞(图14A)、和与抗CD3/抗CD28活化的人T细胞的结合(图14B),如通过流式细胞术所测定。通过使用食蟹猴TIM3转染的细胞(图15A)和抗CD3/抗CD28活化的食蟹猴T细胞(图15B)还测试了抗体与食蟹猴TIM3的结合。图15A显示13A3对食蟹猴TIM3转染的细胞系具有最大结合 EC_{50} ,并且其是与活化的食蟹猴T细胞反应的唯一抗TIM3抗体。

[0558] 实施例3:通过表面等离子共振测定的TIM3抗体与人和食蟹猴TIM3的结合亲和力如下进一步所述,在37°C下补充有0.05% (v/v) Tween-20的PBS pH 7.4中,在Biacore T200仪器上测定抗TIM3 13A3 Fab片段对人和食蟹猴TIM3的动力学和亲和力。所用的人TIM3蛋白由人TIM3的胞外结构域(ECD)连接小鼠Fc组成,由此形成二聚体hTIM3 ECD-Fc蛋白(“hTIM3-mFc”)。该融合蛋白从稳定转染的CHO细胞表达,并且使用蛋白A亲和力,随后通过大小排阻层析从培养基中纯化出来。所用的重组食蟹猴TIM3蛋白由食蟹猴TIM3的胞外结构域后接头和亲和力标签组成,由此形成单体食蟹猴TIM3 ECD蛋白(“cyno TIM3-MycHisAvi”)。该融合蛋白从瞬时转染的Expi293细胞(Life Tech)表达并且将蛋白使用亲和力标签(6x His),随后通过大小排阻层析从培养基中分离并纯化出来。

[0559] hTIM3-mFc的氨基酸序列如下:

SEVEYRAEVGQNAVLPFCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGLDFRKGDVSLT
IENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPAKVTAPATRQRDFTAAFPRLTTRGHGPAETQTLGSLPDI
NLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGASVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFFPKPKDVLITLTPKVTCV
VVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAPPAPIEKTIS
KTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLV
QKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNNHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO: 375)

[0560] cynoTIM3-MycHisAvi的氨基酸序列如下:

SEVEYRAEVGQNAVLPFCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGLDFRKGDVSLT
IENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPAKSPGGSGGGSEQKLISEEDLGHHHHHGLNDIFEAQKI
EWHE (SEQ ID NO: 376)

[0561] 使用连接组蛋白尾的13A3和TIM3.18.IgG1.3的Fabs.13A3重链(HC)Fab 6xHis的氨基酸序列如下:

QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKS
CGGHHHHHH (SEQ ID NO: 365)

[0562] 13A3重链(HC)N60Q D101E Fab 6xHis的氨基酸序列如下:

QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFEPWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKS
CGGHHHHHH (SEQ ID NO: 366)

[0563] 使用瞬时转染Expi293 (Life Tech) 制备重组13A3和TIM3.18.IgG1.3 Fabs.所表达的Fab包含后接hIgG1的CH1的重链可变区和后接hκ的CL结构域的轻链可变区。所表达的Fab分泌到培养基中并使用亲和力标签(6x His)进行纯化。

[0564] 使用用于小鼠抗体的Biacore捕获试剂盒(目录号BR-1008-38)在Biacore CM4系列S芯片(GE Healthcare Life Sciences目录号BR-1005-34)上制备抗小鼠抗体捕获芯片。在流动室2和3上以两种不同的表面密度捕获人TIM3-小鼠Fc融合蛋白。在流动室4上捕获食蟹猴TIM3-小鼠Fc融合蛋白。流动室1(空白捕获表面)充当参照。以3倍、6成员稀释系列,利用1.0μM最高浓度和4.1nM最低浓度在所有表面上使重组表达的His标签化的抗体Fab片段作为分析物流动。双重参考所得的传感图(使用流动室1和缓冲液空白)并且利用质量运输拟合成1:1Langmuir结合模型。整体拟合流动室2和3的数据。

[0565] 在表2中提供了复合体形成(K_a)和解离(K_d)速率以及整体解离常数(K_D)。

[0566] 表2:抗TIM3抗体13A3和TIM3.18.IgG1.3与人以及食蟹猴TIM3蛋白的结合的动力学和亲和力

配体	分析物	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
人TIM3	hTIM3Fc/13A3 Fab	3.2×10^6	6.9×10^{-3}	2.2
食蟹猴TIM3	cynoTIM3Fc/13A3 Fab	2.4×10^6	5.3×10^{-2}	22
人TIM3	hTIM3Fc/TIM3.18 Fab	3.2×10^6	5×10^{-3}	1.6
食蟹猴TIM3	cynoTIM3Fc/TIM3.18 Fab	3.4×10^6	5.9×10^{-2}	17

[0567] 利用13A3的实验不是如利用TIM3.18的那些实验在同一天进行。

[0568] 实施例4:通过Scatchard分析测定的TIM3抗体与人以及食蟹猴TIM3的结合亲和力使用IOD0-GEN[®]固相碘化试剂(1,3,4,6-四氯-3a-6a-二苯基甘脲;Pierce目录28601)利用¹²⁵I-Na(1mCi;PerkinElmer目录NEZ033H001 MC)将TIM3.18.IgG1.3抗体放射性碘化。使用脱盐柱(Pierce目录43243)将过量的碘化物去除。收集标记的抗体部分并在Wizard 1470 γ 计数器(PerkinElmer)上分析放射性。利用来自Invitrogen的Qubit荧光计计算每一部分中的¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3抗体浓度。通过峰蛋白和放射性部分的薄层层析(Pinestar Technology目录151-005)确定放射性纯度。

[0569] 通过将表达人或食蟹猴TIM3的CHO细胞与¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3抗体的滴定液孵育来证实放射性碘化的TIM3.18.IgG1.3抗体与表达人或食蟹猴TIM3的CHO细胞的结合。通过在100倍摩尔过量的未标记抗体的滴定液存在下的结合测定非特异性结合并从总CPM中扣减以计算特异性结合。¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3抗体浓度相对于CPM的线性标准曲线用于外推比活性(specific activity)、最大nM结合的¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3抗体,并由此计算每个细胞的受体数量。

[0570] 结果示于图27A和27B中。¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3抗体标准曲线(图27A)显示1nM的¹²⁵I标记的抗体等于81119.3cpm。通过以下等式:(Bmax) x (阿伏伽德罗数) x (测定体积)/每孔的细胞数计算每个细胞的受体数量。结果显示TIM3.18.IgG1.3抗体对CHO细胞上过量表达的人TIM3具有0.26-0.48nM的亲和力(每个细胞具有414,720个受体),并且对过量表达的食蟹猴TIM3具有0.36-0.48nM的亲和力(每个细胞具有235,944个受体)。

[0571] 利用来自2个供体的活化的人Th1细胞上的¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3抗体(50,000细胞/孔)进行的类似分析提供了0.125-0.164nM的亲和力,尽管在供体之间每个细胞的受体数量上存在几乎四倍的差异(图28)。通过将活化的初级人Th1细胞(如在本文其他实施例中所述制备)与¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3的滴定液孵育证明放射性碘化的TIM3.18.IgG1.3与人TIM3的结合。通过在100倍摩尔过量的未标记抗体的滴定液存在下的结合测定非特异性结合并从总CPM中扣减以计算特异性结合。¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3浓度相对于CPM的线性标准曲线用于外推最大nM结合的¹²⁵I-TIM3.18.IgG1.3,并由此计算每个细胞的受体数量。

[0572] 实施例5:TIM3.18.IgG1.3与人TIM1、人TIM4和小鼠TIM3的交叉反应性的缺失在针对整个基因库进行TIM-3IgV结构域的blast搜索后,最高同源分子是TIM1和TIM4(45%同一性)。通过流式细胞术使用人TIM1或TIM4转染的细胞系的TIM3.18.IgG1.3的选择性谱显示与TIM1或TIM4没有交叉反应性。在小鼠TIM3转染的细胞上通过流式细胞术还显示,TIM3.18.IgG1.3与小鼠TIM3转染的细胞没有交叉反应。

[0573] 实施例6:通过抗TIM3抗体增强了肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)的IFN- γ 产生为了进一步表征抗TIM3抗体并鉴定在体内更可能具有显著的T细胞刺激活性的那些,开发了特异性T细胞测定。所述测定测量了从肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)分泌的IFN- γ 的量,所述肿瘤浸润淋巴细胞从新鲜肿瘤组织分离,并在表达CD3的经照射的CHO细胞("CHO-OKT3细胞")存在下,在存在或不存在TIM3抗体(或对照)的情况下孵育。不希望受具体作用机制的限制,在存在指定抗TIM3抗体的情况下分泌IFN- γ 表明抗体抑制TILs上TIM3正常提供的负信号传导,并刺激TILs的活化(即,IFN- γ 产生)。

[0574] 通过酶消化(Miltenyi,目录号130-095-929)将来自肾细胞癌患者的新鲜肿瘤组织(包括肿瘤浸润淋巴细胞(TILs))制备成单细胞悬浮液。细胞活力高于80%,如通过

FACS所测定。在不同浓度的同种型对照抗体或抗TIM3抗体存在下将 1.5×10^5 个细胞与 2.5×10^4 个经照射的(67,000RAD,1小时20分钟;Rad Source Irradiator,RS-2000Biological System)CHO-OKT3细胞在含IL-2的培养基(IL-2(Peprotech,目录号200-02),20IU/ml)中共培养5天。在培养的第5天,收集细胞上清液并通过ELISA(BD Opteia hIFN γ ELISA试剂盒,BD,目录号555152)测定IFN- γ 水平。在图16中显示的结果表明抗TIM3抗体13A3、3G4、17C3、17C8和9F6刺激肾细胞癌TILs的IFN- γ 产生。

[0575] 利用Miltenyi酶促消化试剂盒(Miltenyi,目录号130-095-929)消化来自肺癌患者的新鲜肿瘤组织。在不同浓度的同种型对照抗体或抗TIM3抗体存在下,单细胞悬浮液与经照射的(67,000RAD,1小时20分钟;Rad Source Irradiator,RS-2000Biological System)CHO-OKT3细胞在以20IU/ml含有IL-2的培养基(IL-2(Peprotech,目录号200-02)中共培养。在培养的第5天,收集细胞上清液用于IFN- γ ELISA(BD Opteia hIFN γ ELISA试剂盒,BD,目录号555152)。在图17A中显示的结果表明所测试的抗TIM3抗体(即,13A3和3G4)刺激肺癌TILs的IFN- γ 产生。

[0576] 此外,在来自肺癌肿瘤组织的细胞悬浮液与利用同种型对照抗体或抗TIM3抗体处理的经照射的(67,000RAD,1小时20分钟;Rad Source Irradiator,RS-2000Biological System)的CHO-OKT3细胞在IL-2的存在下共培养的第3.5天,将细胞与BD GolgiStop孵育过夜。随后,首先利用细胞表面标志物CD45、CD4、CD8、TIM3和PD1将细胞染色,然后固定并利用BD Cytofix/Cytoperm试剂盒透化,随后进行细胞内IFN- γ 染色。在图17B中显示的结果显示细胞内IFN- γ 表达细胞的百分比在CD8⁺细胞(下图)中在抗TIM3抗体处理时增加。

[0577] 图18显示了响应于抗TIM3抗体克隆13A3或3G4的多个肿瘤TIL实验(如在该实施例上文所述进行)的合并数据(即,图上的每个点代表利用13A3或3G4处理的一个患者肿瘤样品的TIL)。若干肾细胞癌(RCC)和肺癌TIL在促进IFN- γ 产生中响应抗TIM-3抗体,而来自甲状腺肿瘤的单个TIL制备物却不能做到这一点。

[0578] 实施例7:抗TIM3抗体基于FACS的交叉阻断

使用Miltenyi T细胞纯化试剂盒从PBMC分离总的人T细胞,并用平板结合的抗CD3(1 μ g/ml;抗CD3克隆OKT3,eBioscience,目录号16-0037-85)和可溶性抗CD28(1 μ g/ml;抗CD28克隆CD28.2,BD Biosciences,目录号555725)活化4天。如通过FACS测定,TIM3在>80%的T细胞中表达。将T细胞与多种抗TIM3抗体一起孵育30分钟,然后与选择的生物素标记的抗TIM3抗体一起孵育30分钟,并通过PE-缀合的链霉抗生物素蛋白检测。图19中显示的结果表明抗体13A3、3G4、17C3、17C8和9F6在相同的分箱(bin)组(组I)中,即彼此交叉竞争,而抗体8B9和8C4在一个单独的分箱组(组II)中,即不与I组中的抗体交叉竞争,但是彼此交叉竞争。显示分箱组I中的抗体具有生物活性(参见实施例),而分箱组II中的抗体具有较弱的活性。不与组I或组II交叉竞争的两种抗TIM3抗体似乎没有任何生物学活性。分箱组I的抗体也是干扰TIM3与PS结合的那些抗体(如本文进一步描述)。

[0579] 实施例8:通过酵母表面展示法的表位作图

编码人TIM3(NM_032782)的胞外结构域的核苷酸序列,即,

```
SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLN  
GDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLKLVKPAKVTPAPTRQRDFTAAFP  
RMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIG, (SEQ ID NO: 290)
```

通过连接到XhoI和NotI限制酶位点克隆到酵母展示质粒PDV0023中。使用来自Agilent Technologies的GeneMorph II Random Mutagenesis试剂盒在序列上进行低速率随机诱变以在TIM3编码区上产生单点突变。在VWK18gal酿酒酵母(*S.cerevisiae*)细胞中产生 9.8×10^6 个克隆的文库。传代 2×10^8 个文库细胞并诱导体抗体标记和细胞分选。将约 2×10^7 个诱导细胞与100nM一级靶标抗人TIM3抗体和100nM抗cMyc (9E10) 抗体在25℃孵育1小时。洗涤细胞,然后用荧光标记的山羊抗人IgG-PE和山羊抗小鼠IgG-A633二级抗体在4℃下检测45分钟,以检测细胞表面上结合的一级抗体。将标记的细胞在BD FACSARIAII仪器上分选到酵母培养基中。收集用抗Myc抗体阳性标记并用抗人TIM3阴性标记的细胞。将APC+/PE-细胞群体扩增,传代并诱导进行第二轮相同的标记和分选以富集所需群体。从未选择的文库中的约 2×10^7 个细胞和两轮选择的分选细胞中纯化酵母质粒DNA。对于每个细胞群体,使用位于人TIM3序列侧翼的载体特异性引物,通过PCR拯救TIM3靶序列并从酵母质粒DNA中纯化出来。使用来自Illumina的用于Illumina测序的Nextera XT DNA文库试剂盒对靶序列PCR产物进行NGS文库制备。将制备的文库送至EA/Q2 Solutions用于在来自Illumina的MiSeq平台上进行高通量测序,且具有300个循环/流动室。将每个文库的50-100万个序列读数与野生型TIM3序列进行比较,并将沿序列的每个位置的突变制成表格。计算所选轮次和未选择文库之间每个残基位置的突变频率差异,并用于确定抗体结合的关键残基。使用基于小鼠TIM3的已知晶体结构的人TIM3结构模型检查具有高突变频率的位置的表面暴露(PDB: 2OYP和PDB: 3BIB)。高突变频率、表面暴露残基被认为是表位的一部分,而高突变频率、埋藏的残基被认为是假阳性。假阳性残基通常是那些破坏蛋白的局部或核心折叠,并间接改变Ab与其表面表位的结合的残基。

[0580] 图20显示了对于所使用的每种抗体,被确定为人TIM3上的表位的一部分的残基。此外,D104在所有作图中显示阳性突变评分,并且可能是R81的结构盐桥。对于8B9表位,L84显示高突变频率,尽管似乎埋藏在支持表位残基的结构中。Q113显示对13A3低的但阳性评分。它可能起表位区域结构支持作用,但具有一些表面暴露。

[0581] 实施例9:TIM3抗体阻断TIM3-PtdSer相互作用

图21A中显示的“串联阻断测定”用于确定抗TIM3抗体是否抑制人TIM3和磷脂酰丝氨酸(“PtdSer”或“PS”)之间的相互作用。由于PS不是水溶性的,因此制备PS-脂质体用于测定。简而言之,将脂质与甲醇/氯仿混合,然后在氮气流下蒸发氯仿并真空过夜。随后,用微尖端(micro tip)对脂质进行超声处理,以完全分散脂质以产生脂质体。将它们进一步通过挤出机>10次以确保均匀的尺寸。

[0582] 用悬浮于氯仿中的PS(L- α -磷脂酰丝氨酸(Brain, Porcine)Avanti Polar Lipids目录号840032C)产生PS脂质体。首先将PS原料在氯仿中稀释至所需量,并在氮气流下蒸发氯仿直至看不到液体。为了除去痕量的氯仿,将干燥的PS置于真空下过夜。然后通过涡旋和短暂超声处理将干燥的PS悬浮在PBS中直至溶液变浑浊。为了产生尺寸确定的PS脂质体,使用具有100nm过滤器的挤出机。将悬浮的PS装入挤出机中并通过过滤器至少10次。此时,将PS脂质体在PBS中稀释至所需浓度。

[0583] 在“串联阻断测定”中,在Octet生物传感器上捕获TIM3(ECD)-Fc,并允许抗TIM3抗体和PS-脂质体与TIM3蛋白结合。当抗TIM3结合阻断PS结合的区域时,PS-脂质体显示无结合。

[0584] 在图21B中显示的结果表明抗体3G4、13A3、17C3和17C8抑制PtSer与人TIM3的结合,而2种其他抗TIM3抗体,即AbA和AbB,不抑制PtSer与人TIM3的结合。如实施例中进一步描述,抑制PtSer结合的抗体也是具有最强功能活性的抗体(如在Th1和TIL测定中测定的)。

[0585] 实施例10:TIM3抗体的HDX-MS表位作图

使用氢/氘交换质谱(HDX-MS)来探测hTIM-3与抗体13A3和3G4的结合表位。

[0586] HDX-MS通过监测主链酰胺氢原子的氘交换速率和程度来探测溶液中的蛋白构象和构象动力学[1,2]。HDX的水平取决于主链酰胺氢原子和蛋白氢键的溶剂可及性。通过MS可以精确测量HDX后蛋白的质量增加。当该技术与酶消化配对时,可以解析肽水平上的结构特征,使得能够区分表面暴露的肽与折叠在内部的那些肽或从蛋白-蛋白复合物界面处隔离的那些肽。通常,进行氘标记和随后的猝灭实验,然后进行酶消化,肽分离和MS分析。

[0587] 在表位作图实验之前,进行非氘化实验以产生重组人TIM-3((hTIM3-ECD(22-200) His-标记的)(参见图25);10 μ M,Sino Biological Inc.)和hTIM-3与抗体13A3和3G4的Fab(1:1摩尔比)的蛋白复合物的常见肽列表。将样品注入Waters Enzymate BEH胃蛋白酶酶柱(2.1 \times 30mm)中,并在200 $^{\circ}$ C下消化3分钟。容纳所有层析元件的UPLC系统的冷却室在整个测量时间内保持在0.0 \pm 0.1 $^{\circ}$ C。将注射的肽捕获并以100 μ L/min脱盐3分钟,然后在6分钟内通过5-40%乙腈-水梯度以65 μ L/min进行分离。分离柱是1.0mm \times 50.0mm ACQUITY UPLC BEH C18柱(Waters)。通过在水HDX-MS系统上使用ProteinLynx Global SERVER 2.5(Waters)的精确质量分析和MSE的组合来完成消化肽的鉴定。

[0588] 在HDX-MS实验中,将5 μ L的每种样品(hTIM-3或具有抗体13A3或3G4的Fab的hTIM-3)稀释到55 μ L的D₂O缓冲液(10mM磷酸盐缓冲液,D₂O,pH7)中以开始标记反应。反应进行了不同的时间段:1分钟,10分钟和240分钟。到每个标记反应期结束时,通过加入猝灭缓冲液(含有4M GdnCl和0.4M TCEP的100mM磷酸盐缓冲液,pH 2.5,1:1,v/v)猝灭反应。使用与非氘化实验中相同的条件在线消化50 μ L猝灭的样品。所有比较实验均在相同的实验条件下进行。全部实验以一式两份实施。使用软件程序DynamX 3.0TM(Waters)将得到的相对氘水平相对于交换时间作图。

[0589] 如图25中所示,在HDX-MS实验中获得97.3%的hTIM-3的序列覆盖率。如图26中所示,与抗体13A3和3G4的Fab结合后hTIM-3的HDX-MS数据分析鉴定出以下不连续表位:

mAb 13A3:⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:367),¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷(SEQ ID NO:368),及其片段¹¹⁹NDEKFNLKL¹²⁷;和

mAb 3G4:⁴⁰YTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE⁶²(SEQ ID NO:369),⁶⁶VVLRTDERDVNY⁷⁷(SEQ ID NO:370),⁷⁸WTSRYWLNQDFRKGDVSL⁹⁵(SEQ ID NO:371),和¹¹⁰CRIQIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷(SEQ ID NO:372)。

[0590] 图26显示了如使用本实施例中描述的HDX-MS方案测定的抗体13A3和3G4结合的HDX-MS肽。

[0591] 因此,抗体13A3与hTIM3的氨基酸残基49-62和111-127的区域相互作用,但不与其他区域显著相互作用,例如氨基酸残基Y40或V49的N-末端区域,位于氨基酸残基E62和R111之间的区域,和氨基酸残基L127的C-末端区域。13A3结合TIM-3IgV结构域的磷脂酰丝氨酸结合环。

[0592] 实施例11:在人体组织交叉反应性中通过TIM3.18的中靶IHC染色在人和食蟹猴脾

的冷冻切片上用13A3进行免疫组织化学(IHC)。在两个物种中,13A3(0.5 μ g/ml)染色静脉血窦的内皮。如所预期,不与食蟹猴TIM-3交叉反应的抗体3G4染色人脾脏而不是食蟹猴脾脏。

[0593] 在初步组织交叉反应性分析中,将FITC缀合的TIM3.18.IgG1.3应用于来自20种正常人组织的冷冻切片或涂片,所述组织其包括大脑、小脑、心脏、肝、肺、肾、PBMC涂片、脾、扁桃体、胸腺、皮肤、结肠、小肠、胃、胰腺、周围神经、垂体、甲状腺、前列腺和胎盘(每种1个供体)。在PBMC、脾和扁桃体的单核细胞(MNC)的亚组中以及胸腺中的上皮网状细胞或巨噬细胞中观察到特异性染色。最显著的染色是在巨噬细胞/DC样细胞中,其在所检查的每个组织中观察到,包括组织特异性巨噬细胞(例如,肝脏中的Kupffer细胞,皮肤中的真皮巨噬细胞/DC和胎盘中的Hofbauer细胞)。在器官水平上,在脾中发现最强的染色。除了小的MNC亚组外,在红髓中的脾内皮细胞中经常看到强染色。此外,在肾皮质的皮质肾小管上皮细胞的小亚组中观察到阳性染色。

[0594] 实施例12:组合抗TIM3和PD-1抗体在小鼠中的抗肿瘤活性在CT26结肠直肠肿瘤模型中评估大鼠抗小鼠TIM-3(RMT3-23)和PD-1(RMP1-14)商业抗体(Bio-X-Cell)。实验设计类似于先前描述的体内研究Ngiow等人(2011)Cancer Res.71:3540。由于在该肿瘤模型中TIM-3表达相对较晚(第15天),因此将少量肿瘤细胞(2×10^5)植入每只小鼠的侧腹,使肿瘤生长最小化,为TIM-3表达留出时间。当肿瘤在第8天变得可触及时,将小鼠随机分成4个治疗组,每组10只小鼠,且平均肿瘤体积为40mm³。通过腹膜内注射施用作为单一或组合药剂(250 μ g/次注射每种抗体)的RMT3-23(抗TIM-3抗体)和RMP1-14(抗PD-1抗体);同种型对照以500 μ g/次注射施用。每只研究动物每次注射接受250 μ g一种抗体或500 μ g的2种组合抗体,总共3次剂量。每两周评估一次肿瘤大小。接受单一或组合测试物的每组中的小鼠表现出抗肿瘤活性,其中抗PD-1单一疗法组中的2/10只小鼠和组合抗PD-1和抗TIM-3组中的6/10小鼠在研究终止时仍然是无肿瘤(图24A)。之前相同设计的CT26研究产生了类似的结果,其中抗PD-1单一疗法组中的3/10小鼠和组合的抗PD-1和抗TIM-3组中的7/10小鼠无肿瘤。作为单一药剂施用抗TIM-3几乎没有或没有抗肿瘤活性。

[0595] 值得注意的是,RMT3-23与活化的小鼠T细胞结合的EC50值为1.7nM,其比结合人TIM-3的TIM3.18的EC50弱17倍。另一种交叉阻断RMT3-23的大鼠抗小鼠TIM-3抗体(Ab M)与活化的小鼠T细胞的结合具有0.1nM的EC50,这相当于TIM3.18的EC50。与RMT3-23一样,Ab M定位到小鼠TIM-3的PS结合环。在CT26肿瘤模型中使用该抗体与mIgG1-D265A(Fc-惰性同种型)重链恒定区证明它增强了对抗PD-1的抗肿瘤应答(图24B)。

[0596] 实施例13:用TIM3抗体(全长或Fab)阻断的Th1细胞增殖测定为了进一步表征抗TIM3抗体,开发了使用体外极化Th1细胞的特异性T细胞增殖测定。通过重复再刺激未经处理(naïve)的CD4⁺ T细胞获得极化Th1细胞。然后在抗TIM3抗体(或对照)存在下将这些细胞与经照射的(生长停滞的)CHO-OKT3细胞一起孵育,并测量Th1细胞增殖。

[0597] 如下将未经处理的CD4⁺ T细胞极化为Th1记忆样T细胞。使用来自Miltenyi的未经处理的CD4⁺ T细胞分离试剂盒从PBMC中纯化未经处理的CD4⁺ T细胞。在存在以下情况下,将细胞以 3.6×10^5 细胞/ml在IMDM/10%FBS中培养3-4天:CD3/CD28包被的(分别为80%/20%)珠粒,以1个珠粒比1个细胞的比例;10ng/ml人IL-2;1ng/ml人IL-12和10000ng/ml抗人IL-4抗体。孵育后,将细胞收集在管中,用磁铁除去珠粒,并将细胞放回新烧瓶中的培养物中。加入重组人IL-2至终浓度为4ng/ml,将细胞再孵育3天。然后收集细胞并用1X IMDM/10%FBS

洗涤。计数细胞,以 4.1×10^5 细胞/ml重悬于IMDM/10%FBS中,并在存在以下情况下培养3-4天:CD3/CD28包被的(分别为80%/20%)珠粒,以1个珠粒比1个细胞的比例;10ng/ml人IL-2;1ng/ml人IL-12和10000ng/ml抗人IL-4抗体。孵育后,将细胞收集在管中,用磁铁除去珠粒,并将细胞放回新烧瓶中的培养物中。加入重组人IL-2至终浓度为4ng/ml,并将细胞再孵育2-3天。然后收获极化的Th1细胞并洗涤3次。在测定设定当天,将极化的Th1细胞重悬于完全培养基中。

[0598] 使用以下试剂:

Dynabeads M-450 Epoxy	Dynal Biotech ASA	140.11
100mM 磷酸钠缓冲液, pH 8.5	Teknova	0214-250
功能级抗 hCD3 克隆 UCHT-1	eBioscience	16-0038-85
功能级抗 hCD28 克隆 CD28.2	eBioscience	16-0289-85
重组人 IL-2	PeproTech, Inc.	200-02
重组人 IL-12	PeproTech, Inc.	200-12
抗人 IL-4	eBioscience	16-7048-85
Iscove's DMEM	Mediatech, Inc.	10-016-CM
胎牛血清(热灭活)	Hyclone	SH30071.03

[0599] CHO-OKT3细胞系在摇瓶中生长并在测定设定当天照射(67,000RAD,1小时20分钟;Rad Source Irradiator,RS-2000Biological System)。如经Annexin V染色证实,经照射的CHO-OKT3细胞提供T细胞刺激并暴露磷脂酰丝氨酸(PS)。

[0600] 通过4倍连续稀释从20 μ g/ml滴定TIM3.18.IgG1.3或同种型对照,其中每种条件一式三份设定。TIM3.18.IgG1.3 Fab也通过4倍连续稀释从53 μ g/ml滴定。TIM3.18.IgG1.3Fab片段与结晶学实验中使用的相同(参见实施例)。

[0601] 将培养物设定在0.1 μ g/ml抗CD28(克隆CD28.2,BD Biosciences,目录号555725)存在下每孔200 μ L完全培养基中具有 1×10^5 个极化的Th1细胞和 2.5×10^4 个经照射的CHO-OKT3细胞(CHO:T细胞比率为1:4)的平底TC处理的96孔板(Costar)中,并在37℃和5%CO₂下孵育3天。然后将板用每孔1 μ Ci氘化胸苷(Perkin Elmer,目录号NET027001MC)脉冲16小时,然后将细胞收集到滤板(Perkin Elmer)上用于分析氘化的胸苷掺入以评估增殖。

[0602] 图29A和29B中显示的结果表明抗TIM3抗体TIM3.18.IgG1.3在CHO-OKT3/Th1共培养细胞测定中以剂量依赖性方式增加Th1细胞增殖。TIM3.18.IgG1.3的总活性与其亲本抗体13A3(IgG4同种型)的总活性相当(图29A)。TIM3.18.IgG1.3 Fab片段在CHO-OKT3/Th1细胞测定中还表现出剂量依赖性的增殖诱导(图29B)。

[0603] 因此,TIM3.18.IgG1.3(全长和Fab)在与经照射的CHO-OKT3细胞共培养物中以剂量依赖性方式强化Th1细胞活性。Fab片段的活性的存在表明TIM3.18.IgG1.3作为拮抗性抗体起作用,并且TIM-3是T细胞功能的抑制性受体。TIM3.18.IgG1.3生物活性不需要Fc交联。

[0604] 实施例14:具有TIM 3和PD 1共同阻断的Th1细胞增殖测定该测定是在抗-CD28存在下,在以CHO:T细胞比例为1:4的用人PD-L1转染的经照射的(生长停滞;67,000RAD,1小时20分钟;Rad Source Irradiator,RS-2000 Biological System)CHO-OKT3细胞(CHO-OKT3-

PD-L1)和Th1细胞之间的共培养。CHO-OKT3-PD-L1细胞系在摇瓶中生长并在测定设定当天进行照射。如本文所述的其他实施例中所述制备极化的Th1细胞。在测定设定当天,将极化的Th1细胞重悬于完全培养基中。

[0605] 通过10倍连续稀释从10 μ g/ml滴定抗PD-1抗体纳武单抗,且每种条件一式三份设定。以20 μ g/ml掺入TIM-3抗体TIM3.18.IgG1.3或同种型对照。

[0606] 将培养物设定在每孔200 μ L完全培养基中具有 1×10^5 Th1细胞和 2.5×10^4 CHO-OKT3-PD-L1细胞的平底TC处理的96孔板(Costar)中[在存在0.1 μ g/ml抗CD28(克隆CD28.2, BD Biosciences, 目录号555725)的情况下],并在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂下孵育3天。然后将板用每孔1 μ Ci氚化胸苷(Perkin Elmer, 目录号NET027001MC)脉冲16小时,然后将细胞收集到滤板(Perkin Elmer)上用于分析氚化的胸苷掺入以评估增殖。

[0607] 图30中显示的结果表明抗PD-1抗体纳武单抗以剂量依赖性方式增加用CHO-OKT3-PD-L1细胞刺激的Th1 T细胞的增殖。并且与TIM3.18.IgG1组合极大地增强了增殖。TIM-3和PD-1途径的共同阻断在该测定中显示出累加效应。

[0608] 实施例15:具有TIM3.18.IgG1.3阻断的肿瘤浸润淋巴细胞IFN- γ 释放测定对于该测定,从手术切除的人肾细胞癌样品或乳腺癌样品中获得新鲜肿瘤组织。使用酶解离试剂盒(Miltenyi, 目录130-095-929)分离肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。TILs补充有20IU/mL IL-2(重组人IL-2, Peprotech, 目录200-02)并与经照射的(生长停滞;67,000RAD, 1小时20分钟; Rad Source Irradiator, RS-2000 Biological System)CHO-OKT3细胞以1:6的CHO:T比例共培养。CHO-OKT3细胞系在摇瓶中生长并在测定设定当天进行照射。

[0609] TIM-3抗体TIM3.18.IgG1.3或同种型对照通过4倍连续稀释从20 μ g/ml滴定,且每种条件一式三份设定。将培养物设定在IMDM+5% FBS和5%人AB血清(Gemini, 目录号100-512)中每孔200 μ L的具有 1.5×10^5 T细胞和 2.5×10^4 经照射的CHO-OKT3细胞的平底TC处理的96孔板(Costar)中,并在37 $^{\circ}$ C和5%CO₂下孵育5天。从每个样品收获上清液用于通过ELISA(BD Opteia hIFN- γ ELISA试剂盒, BD, 目录555152)进行IFN- γ 测量。

[0610] 图31中显示的肾细胞癌TIL和图32中显示的乳腺癌TIL的结果表明TIM3.18.IgG1.3在CHO-OKT3/TIL共培养测定中以剂量依赖性方式增加IFN- γ 产生,且在肾细胞癌TIL测定中较高浓度的TIM3.18.IgG1.3下相对于阴性对照增加高达4倍。

[0611] 实施例16:TIM3.18.IgG1.3促进M0:T同种异体MLR测定中的IFN- γ 分泌来自健康供体的分离的CD14+单核细胞在含有M-CSF的培养基中分化至M0阶段。在培养的第6天后,通过FACS染色,显著的巨噬细胞群体在细胞表面上表达CD163+和CD206+,与抑制性巨噬细胞的特征一致。通过用抗TIM-3抗体的流式细胞术,显示TIM-3在M0巨噬细胞中表达(图33)。然后照射这些M0巨噬细胞(5,000RAD 7分钟;Rad Source Irradiator, RS-2000 Biological System)并与同种异体供体的总T细胞共培养,并且在共培养后第6天,将混合细胞用³H-胸苷脉冲过夜用于评估T细胞增殖。

[0612] 图34中显示的结果表明与同种型对照相比,TIM3.18.IgG1.3增加T细胞增殖。

[0613] 实施例17:与hTIM3相互作用的TIM3.18.IgG1.3 Fab的晶体结构

如下将hTIM3 IgV区与TIM3.18的Fab片段共结晶。所用的序列如下:

hTim3_IgV:

HHHHHSAALEVLFGQPGSEVEYRAEVGQONAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE CGNVVLRTDERDVNYW
 TSTRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPA

(SEQ ID NO:377;TIM3序列加下划线)

Tim3.18_Fab:

QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWI RQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDT
 SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFEPWQGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
 LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS
 CGGHHHHHHH (SEQ ID NO: 366)

Tim3.18_kappa:

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLT
 ISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGT RLEIKRTVAAPS VFI FPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFY PREAKVQWK
 VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ
 ID NO: 29)

[0614] 表达和纯化。在大肠杆菌(E.Coli) (BL21 DE3) 中用pET47b载体表达组氨酸标签化的hTim3 IgV结构域。按照以下公开的mTim3方案进行纯化和重折叠(DeKruyff等人J.Immunology 2010)。Tim3.18 Fab在HEK293细胞中瞬时表达,并通过重链上的C末端His标签纯化。

[0615] 复合物的结晶和结构测定。将具有Tim3.18 Fab的hTim3 IgV结构域的晶体结构解析至1.5Å。首先用来自Hampton Research的多种筛选筛选Fab:抗原复合物的结晶条件,并在PEG 3350,pH范围为6.5-5.5的条件下观察到晶体簇。进一步优化晶体生长条件以允许单晶生长。用甘油作为冷冻保护剂收获单晶,并在液氮中快速冷冻。使用Pilatus-6M检测器在APS的IMCA-CAT进行数据收集。使用Global Phasing软件处理衍射图像,并使用Tim3.18的Fab模型进行相位分析(phased)。使用CCP4套件,Coot,Phenix和Global Phasing软件套件完成多轮精修。

[0616] 解析的hTim3 IgV结构域与已公开的hTim3结构(PDB:5F71;worldwideweb.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?pdbId=5F71),以及在与PS的复合物中解析的mTim3结构(PDB:3KAA;worldwideweb.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3kaa;Rosemarie等人(2010)J Immunol 184:1918)的结构域完全匹配。从这些结构比对推断出hTim3中的PS结合口袋。另外,PS结合口袋的位置在人和小鼠的TIM成员中是保守的(Freeman等人(2010)Immunol Rev.235:172)。

[0617] 通过计算hTIM3:TIM3.18 Fab晶体结构和单独的hTIM3结构之间的可及表面积差异(“表面埋藏方法”)鉴定hTim3蛋白上TIM3.18的接触残基。在与TIM3.18 Fab形成复合物后显示埋藏表面积hTIM3残基被定义为接触残基的一部分。蛋白的溶剂可及表面定义为探针球体(代表1.4-Å半径的溶剂分子)随着它在蛋白的范德瓦尔斯(Van der Waals)表面上滚动时中心的位置。通过在围绕每个原子的延伸球体上产生表面点(在距离原子中心的距离等于原子和探针半径之和处),并消除位于与邻近原子相关的等效球体内的那些来计算溶剂可接触的表面积,如程序AREAIMOL(http://www.ccp4.ac.uk/newsletters/newsletter38/03_surfarea.html)中所执行。

[0618] 图35和36中显示的结果提供下列氨基酸是接触残基,如上述表面埋藏方法所鉴

定:P29、V30、C31、P38、V39、F40、E41、C42、G43、N44、V45、V46、L47、R48、T49、D50、E51、D53、R90、Q92、G95、I96、M97、D99(根据SEQ ID NO:290编号,其是成熟的hTIM3胞外结构域)或P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、T70、D71、E72、D74、R111、Q113、G116、I117、M118、D120(根据SEQ ID NO:286编号(图20),其是具有信号肽的hTIM3)。这些结果表明TIM3.18.IgG1.3在人TIM3上的接触残基与人TIM3上的PS结合口袋重叠。具体而言,TIM3.18的重链CDR2占据PS结合口袋。通过重链CDR1和CDR3产生与PS结合环的额外接触。此处生成的结构数据证实了PS阻断测定中获得的结果(参见实施例)。

[0619] 结晶学结果还显示,hTIM3的下列氨基酸残基具有位于TIM3.18 Fab的氨基酸残基原子的5 Å内(“5 Å距离法”)的原子:P29、V30、C31、P38、V39、F40、E41、C42、G43、N44、V45、V46、L47、R48、D50、E51、D53、R90、I91、Q92、G95、I96、M97、D99(根据SEQ ID NO:290编号,其是成熟的hTIM3胞外结构域)或P50、V51、C52、P59、V60、F61、E62、C63、G64、N65、V66、V67、L68、R69、D71、E72、D74、R111、I112、Q113、G116、I117、M118、D120(根据SEQ ID NO:286编号(图20),其是具有信号肽的hTIM3)。在表3中显示了Fab和hTIM3蛋白的具体相互作用残基。

[0620] 表3与Fab残基相互作用的人TIM3残基的列表

Tim3 残基	Tim3.18 抗体		
	重/轻链	残基 #	残基类型
29(PRO)	H/	56	(SER)
	H/	57	(GLY)
	H/	58	(PHE)
30(VAL)	H/	56	(SER)
	H/	58	(PHE)
31(CYS)	H/	58	(PHE)
	H/	55	(TYR)
38(PRO)	H/	106	(TYR)
39(VAL)	H/	60	(TYR)
	H/	106	(TYR)
	L/	92	(TYR)
	L/	93	(GLY)
	L/	94	(SER)
	L/	95	(SER)
40(PHE)	H/	49	(TRP)
	H/	54	(TYR)
	H/	60	(TYR)
	H/	106	(TYR)
	H/	108	(HIS)
	L/	95	(SER)
	L/	97	(ILE)

41(GLU)	H/	54	(TYR)
	H/	55	(TYR)
	H/	56	(SER)
	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)
	H/	103	(TYR)
42(CYS)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
43(GLY)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
	H/	105	(ASP)
	H/	106	(TYR)
44(ASN)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
	H/	105	(ASP)
45(VAL)	H/	32	(ARG)
	H/	33	(SER)
	H/	55	(TYR)
	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
46(VAL)	H/	32	(ARG)
47(LEU)	H/	32	(ARG)
	H/	55	(TYR)
48(ARG)	H/	30	(SER)
	H/	31	(SER)
	H/	32	(ARG)
	H/	55	(TYR)
50(ASP)	H/	55	(TYR)
	H/	56	(SER)
51(GLU)	H/	30	(SER)
53(ASP)	H/	32	(ARG)
90(ARG)	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)
91(ILE)	H/	58	(PHE)
92(GLN)	H/	57	(GLY)
	H/	58	(PHE)
	H/	59	(THR)
	H/	60	(TYR)
95(GLY)	H/	66	(LYS)
96(ILE)	H/	66	(LYS)
97(MET)	H/	66	(LYS)
99(ASP)	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)

[0621] 通过两种方法鉴定的氨基酸残基的比较显示残基基本上相同,除了仅通过表面埋藏方法鉴定的残基T49和仅通过“5 Å 距离法”鉴定的残基I91。

[0622] 实施例18:TIM3.18.IgG1.3的额外特征
在表4中提供了在CHO细胞中表达的TIM3.18.IgG1.3的生物物理学特征。

[0623] 表4:TIM3.18.IgG1.3的生物物理学特征

性质:	方法	结果
身份	LC-MS/MS 肽图谱	去糖基化的 MW =145,619 Da (如所预测) 去糖基化的、还原的和烷基化的 HC = 50,068 Da 去糖基化的、还原的和烷基化的 LC = 23,683Da 通过肽图谱和质谱确认> 99%序列和二硫键结构
纯度/同质性	CE-SDS	95.1% 单体, 杂质包括 2.9%HHL, 0.9%HL, 0.5%HH, 0.6%LC; 非糖基化重链 2.1%
	SEC	98.5% 单体
	SE-MALS	99.94% (150 kDa) , 0.06% (322 kDa)
	HIC-HPLC	92% 主峰, 1% 主峰前, 7% 主峰后
	CE (聚糖)	GOF (79.3%) , G1F (12.2%) , G2F (0.7%) , Man5 (6.8%) , G0 (0.9%) 。
化学修饰	cIEF	主峰 pI = 8.6, pI 范围 8.17-8.66
	LC-MS/MS 肽图谱	非常低
热稳定性和可逆性	DSC (稀释到储存缓冲液中)	Tm1 = 68.1 °C , Tm2 = 80.3 °C , Tm3=82.6 °C 74°C下的可逆性 = 96 %, 80°C下的可逆性=26 %

[0624] 在重链的N297处确认了单个N糖基化位点,其中聚糖谱与CHO表达的IgG1单克隆抗体的聚糖谱一致。TIM3.18.IgG1.3不结合CD16、CD32或CD64,提示其对任何Fc-FcR介导的效应子功能是惰性的。TIM3.18.IgG1.3具有良好的热稳定性 (Tm1=68.1 °C ,Tm2=80.3 °C ,Tm3=82.6 °C) 和热可逆性 (在74 °C下为95.6 %,在80 °C下为25.5 %) ,其提示分子在热应激下保持其结构完整性并且当应激解除时具有强健的重折叠性质。

[0625] 在表5中提供了TIM3.18.IgG1.3的稳定性特征。

[0626] 表5:TIM3.18.IgG1.3的稳定性

性质:	方法	结果
冻/融 (1 小时于-80°C, 1 小时于 RT × 6)	UV, SEC	未发现冻/融稳定性风险
溶解性/浓度概况	UV, SEC	至少 60 mg/mL
加速的稳定性	SEC , DLS , HIC ,	于 40°C下 12w LMW 每月增加=2%
在平台配方中 50 mg/mL 12w 于 4°C、25°C和 40°C	cIEF , LC-MS/MS 肽图谱	于 40°C下 12w HMW 增加<1%
		于 40°C下 12w 酸性变体每月增加= 18%

[0627] 在50mg/mL的冻融应激 (6个循环) 期间未观察到物理稳定性问题。将50mg/mL的强制降解研究设定为4、25和40 °C。在测试的任何条件下,在12周内未观察到CDR区中的化学修饰。

[0628] 通过计算机模拟 (in silico) 方法评估TIM3.18.IgG1.3的潜在免疫原性风险。TIM3.18.IgG1.3的计算机模拟iDAB分析显示该mAb的CDR中极少潜在的HLA结合序列,表明诱导人免疫应答的风险低。

[0629] 实施例19:TIM3.18.IgG1.3在猴中的PK/PD

在单剂量PK/PD和耐受性研究中,用2.5mg匙孔血蓝蛋白 (KLH) 和表达猿猴免疫缺陷病毒 (SIV) Nef和Gag蛋白的非增殖重组腺病毒-5 (Ad5) 载体 (每个载体3 × 10⁹) 肌内免疫所有猴。免疫后,以0 (媒介物) 、0.5、10或25mg/kg (N=3/组;混合性别) 的剂量向猴静脉内施用TIM3.18.IgG1.3。收集血清样品长达42天以评估药代动力学 (PK) 和抗药物抗体 (ADA) ,并收集血液样品长达42天以评估受体占有率。保留额外的血清样本用于其他探索性终点,包

括可溶性TIM-3水平。

[0630] AUC_{0-168h} 与0.5至25mg/kg的剂量成比例。TIM3.18.IgG1.3证明约2周的 $T_{1/2}$ 和0.18mL/h/kg的总血清清除率。稳态下的分布体积在68至84mL/kg的范围内,提示TIM3.18.IgG1.3主要驻留在细胞外间隙(表6)。

[0631] 表6:在食蟹猴中IV施用后TIM3.18.IgG1.3的药代动力学参数

研究	猴 数量	剂量 (mg/kg)	AUC (μ g·h/mL) (μ M×h)	$T_{1/2}$ (h)	CLT (mL/h/kg)	VSS (mL/kg)
DT16095	3	0.5	NC	NC	NC	NC
	3	10	358 ± 90*	337 ± 91	0.19 ± 0.047	84 ± 3.8
	3	25	1076 ± 324	321 ± 104	0.17 ± 0.053	68 ± 7.4

*外推的AUC超过20%的截止值并且范围为21%至55%。

[0632] 基于食蟹猴中的PK和异速比例,预计的人总血清清除率为0.10mL/h/kg,且Vss为88mL/kg。因此,预计的人半衰期约为26天。

[0633] 实施例20:初步细胞因子释放测定

为了确定用TIM3.18.IgG1.3治疗是否引起细胞因子释放综合征的风险,来自16个人供体的全血与20 μ g/mL的TIM3.18.IgG1.3或阳性对照在溶液中一起孵育。对于每个供体检查一组75种血清细胞因子和趋化因子。没有T细胞来源的细胞因子或趋化因子释放增加的证据,提示细胞因子释放综合征的风险低。在来自一些供体的全血测定中,IL-1 β 、IL-6、IL-10、TNF- α 和G-CSF升高,这与上文呈现的TIM-3阻断增加了单核细胞或巨噬细胞衍生的细胞因子产生的证据一致。

[0634] 实施例21:TIM3.18.IgG1.3不会导致受体下调或内化

为了确定13A3在与细胞膜结合时是否下调或内化细胞膜上的人TIM3,进行如图37中显示的荧光猝灭研究。图38中显示的处理3小时后的结果表明13A3抗体或变体D101E或N60Q在活化的供体CD8⁺ T细胞中均未引起细胞内TIM3抗体的剂量依赖性积累,提示抗体未被内化。

[0635] 为了确定潜在的下调,将活化的供体CD8⁺ T细胞在多种量的13A3、13A3.D101E.Ig1.1f、13A3.D101E/N60Q.IgG1.1f或对照抗体或无抗体的存在下孵育2小时,并测定细胞表面上TIM3的量。结果表明与抗TIM3抗体一起孵育不下调细胞表面TIM3。

抗-TIM-3 13A3 VH1

V 区段 : 4-39

D 区段 : 4-17

J 区段 : JH5b

1	Q	L	Q	L	Q	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T
	CAG	CTG	CAG	CTG	CAG	GAG	TCG	GGC	CCA	GGA	CTG	GTG	AAG	CCT	TCG	GAG	ACC
52	L	S	L	T	C	T	V	S	G	G	S	I	S	<u>CDR1</u>			
	CTG	TCC	CTC	ACC	TGC	ACT	GTC	TCT	GGT	GGC	TCC	ATC	AGC	AGT	AGA	AGT	TAC
103	Y	W	G	W	I	R	Q	P	P	G	K	G	L	E	W	I	G
	TAC	TGG	GGC	TGG	ATC	CGC	CAG	CCC	CCA	GGG	AAG	GGG	CTG	GAG	TGG	ATT	GGG
154	<u>CDR2</u>																
	S	I	Y	Y	S	G	F	T	Y	Y	N	P	S	L	K	S	R
	AGT	ATC	TAT	TAT	AGT	GGG	TTC	ACC	TAC	TAC	AAC	CCG	TCC	CTC	AAG	AGT	CGA
205	V	T	I	S	V	D	T	S	K	N	Q	F	S	L	K	L	S
	GTC	ACC	ATA	TCC	GTT	GAC	ACG	TCC	AAG	AAC	CAG	TTC	TCC	CTG	AAG	CTG	AGC
256	S	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	A	T	<u>CDR3</u>		
	TCT	GTG	ACC	GCC	GCA	GAC	ACG	GCT	GTG	TAT	TAT	TGT	GCG	ACA	GGG	GGG	CCC
307	Y	G	D	Y	A	H	W	F	D	P	W	G	Q	G	T	L	V
	TAC	GGT	GAC	TAC	GCC	CAC	TGG	TTC	GAC	CCC	TGG	GGC	CAG	GGA	ACC	CTG	GTC
358	T	V	S	S													
	ACC	GTC	TCC	TCA													

图1A

13A3 _NT_VH1

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGCTGCAGCTGCAGGAG
TCGGGCCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT
AGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGT
GGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCC
CTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTAC
GCCCCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

13A3 _AA_VH1

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYS
GFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLVTVSS

13A3 _NT_VK1

ATGGAACCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTCACCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTG
GAGATTAAA

13A3 _AA_VK1

METPAQLLLFLLLWLPD TTGEIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGRLEIK

图1C

抗-TIM-3 8B9 VH1

V 区段 : 4-59

D 区段 : 4-17

J 区段 : JH6b

1	Q	V	Q	L	Q	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T
	CAG	GTG	CAG	CTG	CAG	GAG	TCG	GGC	CCA	GGA	CTG	GTG	AAG	CCT	TCG	GAG	ACC
52	L	S	L	T	C	T	V	S	G	G	S	I	S	CDR1 R H Y W			
	CTG	TCC	CTC	ACC	TGC	ACT	GTC	TCT	GGT	GGC	TCC	ATC	AGT	CGT	CAC	TAC	TGG
103	N	W	I	R	Q	P	P	G	K	G	L	E	W	I	G	CDR2 Y I	
	AAC	TGG	ATC	CGG	CAG	CCC	CCA	GGG	AAG	GGA	CTG	GAG	TGG	ATT	GGG	TAT	ATC
154	H	Y	S	G	S	T	N	Y	N	S	S	L	K	S	R	V	T
	CAT	TAC	AGT	GGA	AGC	ACC	AAC	TAC	AAT	TCC	TCC	CTC	AAG	AGT	CGA	GTC	ACC
205	I	S	V	D	T	S	K	N	Q	F	S	L	K	L	S	S	V
	ATA	TCA	GTA	GAC	ACG	TCC	AAG	AAC	CAG	TTC	TCC	CTG	AAG	CTG	AGC	TCT	GTG
256	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	CDR3 D T G Y Y				
	ACC	GCT	GCG	GAC	ACG	GCC	GTG	TAT	TAC	TGT	GCG	AGA	GAT	ACT	GGG	TAC	TAC
307	G	M	D	I	W	G	Q	G	T	T	V	T	V	S	S		
	GGT	ATG	GAC	ATC	TGG	GGC	CAA	GGG	ACC	ACG	GTC	ACC	GTC	TCC	TCA		

图2A

J 区段: JK4

	E	I	V	L	T	Q	S	P	G	T	L	S	L	S	P	G	E								
1	GAA	ATT	GTG	TTG	ACG	CAG	TCT	CCA	GGC	ACC	CTG	TCT	TTG	TCT	CCA	GGG	GAA								
	R	A	T	L	S	C	CDR1						R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L		
52	AGA	GCC	ACC	CTC	TCC	TGC	AGG	GCC	AGT	CAG	AGT	GTT	AGC	AGC	AGC	ATC	TTC								
	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	G								
103	GCC	TGG	TAC	CAG	CAG	AAA	CCT	GGC	CAG	GCT	CCC	AGG	CTC	CTC	ATC	TAT	GGT								
	CDR2							A	S	S	R	A	T	G	I	P	D	R	F	S	G	S	G	S	
154	GCA	TCC	AGC	AGG	GCC	ACT	GGC	ATC	CCA	GAC	AGG	TTC	AGT	GGC	AGT	GGG	TCT								
	G	T	D	F	T	L	T	I	S	R	L	E	P	E	D	F	A								
205	GGG	ACA	GAC	TTC	ACT	CTC	ACC	ATC	AGC	AGA	CTG	GAG	CCT	GAA	GAT	TTT	GCA								
	V	Y	Y	C	CDR3								Q	Q	Y	G	S	S	P	L	T	F	G	G	G
256	GTG	TAT	TAC	TGT	CAG	CAG	TAT	GGT	AGC	TCA	CCT	CTC	ACT	TTC	GGC	GGA	GGG								
	T	K	V	E	I	K																			
307	ACC	AAG	GTG	GAG	ATC	AAA																			

图2B

8B9_NT_VH1

ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAGCTGCAGGAG
TCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGT
CACTACTGGAAGTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGGGAAGC
ACCAACTACAATTCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAG
CTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATC
TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

8B9_AA_VH1

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPKGLEWIGYIHYSGS
TNYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTGYYGMDIWGQGTTVTVSS

8B9_NT_VK1

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCTCACTTTTCGG
CGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

8B9_AA_VK1

METPAQLLFLLLLLWLPD TTGEIVLTQSPGTL SLSPGERATL SCRAQS SVSSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIK

图2C

抗-TIM-3 8C4 VH1

V 区段: 4-59

D 区段: 4-17

J 区段: JH6b

1	Q	V	Q	L	Q	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T
	CAG	GTG	CAG	CTG	CAG	GAG	TCG	GGC	CCA	GGA	CTG	GTG	AAG	CCT	TCG	GAG	ACC
52	L	S	L	T	C	T	V	S	G	G	S	I	S	<u>CDR1</u> R Y Y W			
	CTG	TCC	CTC	ACC	TGC	ACT	GTC	TCT	GGT	GGC	TCC	ATC	AGT	CGT	TAC	TAC	TGG
103	S	W	I	R	Q	P	P	G	K	G	L	E	W	I	G	<u>CDR2</u> Y I	
	AGC	TGG	ATC	CGG	CAG	CCC	CCA	GGG	AAG	GGA	CTG	GAG	TGG	ATT	GGG	TAT	ATC
154	H	Y	T	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	R	V	T
	CAT	TAC	ACT	GGG	AGC	ACC	AAC	TAC	AAC	CCC	TCC	CTC	AAG	AGT	CGA	GTC	ACC
205	I	S	V	D	T	S	K	N	Q	F	S	L	K	L	S	S	V
	ATA	TCA	GTA	GAC	ACG	TCC	AAG	AAC	CAG	TTC	TCC	CTG	AAG	CTG	AGC	TCT	GTG
256	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	A	T	<u>CDR3</u> D T G Y				
	ACC	GCA	GCG	GAC	ACG	GCC	GTG	TAT	TAC	TGT	GCG	ACA	GAT	ACG	GGC	TAC	
307	Y	G	M	D	V	W	G	Q	G	T	T	V	T	V	S	S	
	TAC	GGT	ATG	GAC	GTC	TGG	GGC	CAA	GGG	ACC	ACG	GTC	ACC	GTC	TCC	TCA	

图3A

抗-TIM-3 8C4 VK1

V 区段 : A27

J 区段 : JK4

```
      E   I   V   L   T   Q   S   P   G   T   L   S   L   S   P   G   E
1      GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      R   A   T   L   S   C   CDR1
52      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

      A   W   Y   Q   Q   K   P   G   Q   A   P   R   L   L   I   Y   G
103     GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      A   S   S   R   A   T   CDR2
154     GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

      G   T   D   F   T   L   T   I   S   R   L   E   P   E   D   F   A
205     GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

      V   Y   Y   C   CDR3
256     GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG CTC ACT TTC GGC GGA GGG

      T   K   V   E   I   K
307     ACC AAG GTG GAG ATC AAA
```

图3B

8C4_NT_VH1

ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAGCTGCAGGAG
TCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGT
TACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACACTGGGAGC
ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAG
CTGAGCTCTGTGACCGCAGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGATACGGGCTACTACGGTATGGACGTC
TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

8C4_AA_VH1

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISRYYWSWIRQPPGKLEWIGYIHYTGS
TNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATDTGYYGMDVWGQGTITVTVSS

8C4_NT_VK1

ATGGAACCCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTG
GAGATCAAA

8C4_AA_VK1

METPAQLLFLLLLWLFDTTGEIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIK

图3C

抗-TIM-3 17C3 VH1

V 区段 : 1-46

D 区段 : 3-10

J 区段 : JH6b

1	Q	V	Q	L	V	Q	S	G	A	E	V	K	K	P	G	A	S	
	CAG	GTG	CAG	TTG	GTG	CAG	TCT	GGG	GCT	GAG	GTG	AAG	AAG	CCT	GGG	GCC	TCA	
52	V	K	V	S	C	K	A	S	G	Y	T	F	T	<u>CDR1</u> S Y Y M				
	GTG	AAG	GTC	TCC	TGC	AAG	GCA	TCT	GGA	TAC	ACT	TTC	ACC	AGC	TAC	TAT	ATG	
103	H	W	V	R	Q	A	P	G	Q	G	L	E	W	M	G	<u>CDR2</u> I I		
	CAC	TGG	GTG	CGA	CAG	GCC	CCT	GGA	CAA	GGG	CTT	GAG	TGG	ATG	GGA	ATA	ATC	
154	N	P	R	G	D	S	I	I	Y	A	Q	K	F	Q	G	R	V	
	AAC	CCT	AGG	GGT	GAT	AGC	ATA	ATC	TAC	GCA	CAG	AAG	TTC	CAG	GGC	AGA	GTC	
205	T	M	T	R	D	T	S	T	S	T	V	Y	M	E	L	S	S	
	ACC	ATG	ACC	AGG	GAC	ACG	TCC	ACG	AGC	ACA	GTC	TAC	ATG	GAG	CTG	AGC	AGC	
256	L	R	S	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	<u>CDR3</u> D F Y G				
	CTG	AGA	TCT	GAG	GAC	ACG	GCC	GTG	TAT	TAC	TGT	GCG	AGA	GAT	TTC	TAT	GGT	
307	S	G	N	Y	Y	Y	G	M	D	V	W	G	Q	G	T	T	V	
	TCG	GGA	AAC	TAC	TAC	TAC	GGT	ATG	GAC	GTC	TGG	GGC	CAA	GGG	ACC	ACG	GTC	
358	T	V	S	S														
	ACC	GTC	TCC	TCA														

图4A

抗-TIM-3 17C3 VK1

V 区段 : A27

J 区段: JK5

1	E	I	V	L	T	Q	S	P	G	T	L	S	L	S	P	G	E
	GAA	ATT	GTG	TTG	ACG	CAG	TCT	CCA	GGC	ACC	CTG	TCT	TTG	TCT	CCA	GGG	GAA
							CDR1										
52	R	A	T	L	S	C	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L
	AGA	GCC	ACC	CTC	TCC	TGC	AGG	GCC	AGT	CAG	AGT	GTT	AGC	AGC	AGC	TAC	TTA
103	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	G
	GCC	TGG	TAC	CAG	CAG	AAA	CCT	GGC	CAG	GCT	CCC	AGG	CTC	CTC	ATC	TAT	GGT
							CDR2										
154	A	S	S	R	A	T	G	I	P	D	R	F	S	G	S	G	S
	GCA	TCC	AGC	AGG	GCC	ACT	GGC	ATC	CCA	GAC	AGG	TTC	AGT	GGC	AGT	GGG	TCT
205	G	T	D	F	T	L	T	I	S	R	L	E	P	E	D	F	A
	GGG	ACA	GAC	TTC	ACT	CTC	ACC	ATC	AGC	AGA	CTG	GAG	CCT	GAA	GAT	TTT	GCA
							CDR3										
256	V	Y	Y	C	Q	Q	Y	G	S	S	P	I	T	F	G	Q	G
	GTG	TAT	TAC	TGT	CAG	CAG	TAT	GGT	AGC	TCA	CCG	ATC	ACC	TTC	GGC	CAA	GGG
307	T	R	L	E	I	K											
	ACA	CGA	CTG	GAG	ATT	AAA											

图4B

17C3_NT_VH1

ATGGACTGGACCTGGAGGGTCTTCTGCTTGCTGGCTGTAGCTCCAGGTGCTCACTCCCAGGTGCAGTTGGTGCAG
TCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACTTTCACCAGC
TACTATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAACCCTAGGGGTGAT
AGCATAATCTACGCACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATG
GAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTTCTATGGTTCGGGAAACTAC
TACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAACCGTCTCCTCA

17C3_AA_VH1

MDWTWRVFCLLAVAPGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPRGD
SIIYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDIFYGSGNYYYGMDVWGQGT'TVTVSS

17C3_NT_VK1

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTCACCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTG
GAGATTAAA

17C3_AA_VK1

METPAQLLFLLLLWLPD'TTGEIVLTQSPGTL'SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGT'RLEIK

图4C

抗-TIM-3 9F6 VH1

V 区段 : 3-11

D 区段 : 6-19

J 区段 : JH6b

1	Q	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	K	P	G	G	S
	CAG	GTG	CAG	CTG	GTG	GAG	TCT	GGG	GGA	GGC	TTG	GTC	AAG	CCT	GGA	GGG	TCC
52	L	R	L	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	CDR1			
	CTG	AGA	CTC	TCC	TGT	GCA	GCC	TCT	GGA	TTC	ACC	TTC	AGT	GAC	TAC	TAC	ATG
103	S	W	I	R	Q	A	P	G	K	G	L	E	W	V	S	CDR2	
	AGC	TGG	ATC	CGC	CAG	GCT	CCA	GGG	AAG	GGG	CTG	GAG	TGG	GTT	TCA	TTC	ATT
154	S	G	G	G	S	T	I	Y	Y	A	D	S	V	K	G	R	F
	AGT	GGT	GGT	GGT	AGT	ACC	ATA	TAC	TAC	GCA	GAC	TCT	GTG	AAG	GGC	CGA	TTC
205	T	I	S	R	D	N	A	K	N	S	L	F	L	Q	M	N	S
	ACC	ATC	TCC	AGG	GAC	AAC	GCC	AAG	AAC	TCG	CTG	TTT	CTG	CAA	ATG	AAC	AGC
256	L	R	V	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	CDR3			
	CTG	AGA	GTC	GAG	GAC	ACG	GCT	GTG	TAT	TAC	TGT	GCG	AGA	GAT	GGC	TAT	AGC
307	S	G	W	Y	Y	Y	G	M	D	V	W	G	Q	G	T	A	V
	AGT	GGC	TGG	TAC	TAC	TAC	GGT	ATG	GAC	GTC	TGG	GGC	CAA	GGG	ACC	GCG	GTC
358	T	V	S	S													
	ACC	GTC	TCC	TCA													

图5A

J 区段: JK1

图5B

抗-TIM-3 9F6 VK2

V 区段 : A27

J 区段 : JK4

```
1      E   I   V   L   T   Q   S   P   G   T   L   S   L   S   P   G   E
      GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      R   A   T   L   S   C   CDR1
      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

103    A   W   Y   Q   Q   K   P   G   Q   A   P   R   L   L   I   Y   G
      GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      CDR2
154    A   S   S   R   A   T   G   I   P   D   R   F   S   G   S   G   S
      GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

      G   T   D   F   T   L   T   I   S   R   L   E   P   E   D   F   A
205    GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

      CDR3
256    V   Y   Y   C   Q   Q   Y   G   S   S   L   T   F   G   G   G   T
      GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CTC ACT TTC GGC GGA GGG ACC

      K   V   E   I   K
307    AAG GTG GAG ATC AAA
```

图5C

抗-TIM-3 9F6 VK3

V 区段 : A27

J 区段 : JK4

```
      E   I   V   L   T   Q   S   P   G   T   L   S   L   S   P   G   E
1     GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      CDR1
      R   A   T   L   S   C   R   A   S   Q   S   V   S   S   S   Y   L
52    AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

      A   W   Y   Q   Q   K   P   G   Q   A   P   R   L   L   I   Y   G
103   GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      CDR2
      A   S   S   R   A   T   G   I   P   D   R   F   S   G   S   G   S
154   GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

      G   T   D   F   T   L   T   I   S   R   L   E   P   E   D   F   A
205   GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

      CDR3
      V   Y   Y   C   Q   Q   Y   G   S   S   P   L   T   F   G   G   G
256   GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG CTC ACT TTC GGC GGA GGG

      T   K   V   E   I   K
307   ACC AAG GTG GAG ATC AAA
```

图5D

9F6_NT_VH1

TGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTTGCTATTATAAAAGGTGTCCAGTGTGAGGTGCAGCTGGTGGAGT
CTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACT
ACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATTATTAGTGGTGGTGGTAGTA
CCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGC
AAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACT
ACTACGGTATGGACGTCCTGGGGCCAAGGGACCGCGGTCACCGTCTCCTCA

9F6_AA_VH1

MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGS
TIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWQGQTAVTVSS

9F6_NT_VK1

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAG
TTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGC
ATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGT
TTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAAGCGGAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
CAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCTCGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAG
GTGGAAATCAAA

9F6_AA_VK1

MDMRVPAQLLGLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASS
LESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPRTFGQGTKVEIK

9F6_NT_VK2

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTCACTCACTTTTCGGCGAGGGACCAAGGTGGAG
ATCAAA

9F6_AA_VK2

METPAQLLFLLLWLPLDPTTGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSTLTFGGGTKVEIK

9F6_NT_VK3

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTCACCGCTCACTTTTCGG
CGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

9F6_AA_VK3

METPAQLLFLLLWLPLDPTTGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSTLTFGGGTKVEIK

图5E

抗-TIM-3 3G4 VH1

V 区段 : 3-11

D 区段 : 6-13

J 区段 : JH6b

```
      Q   V   Q   L   V   E   S   G   G   G   L   V   K   P   G   G   S
1      CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTC AAG CCT GGA GGG TCC

      L   R   L   S   C   A   A   S   G   F   T   F   S   CDR1
52      CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTC AGT GAC TAC TAC ATG
                                     D   Y   Y   M

      S   W   I   R   Q   A   P   G   K   G   L   E   W   V   S   CDR2
103     AGC TGG ATC CGC CAG GCT CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG GTT TCA TTC ATT
                                     F   I

      S   T   S   G   S   I   I   Y   Y   A   D   S   V   K   G   R   F
154     AGT ACT AGT GGT AGT ATC ATA TAC TAC GCA GAC TCT GTG AAG GGC CGA TTC

      T   I   S   R   D   N   A   K   N   S   L   Y   L   Q   M   N   S
205     ACC ATC TCC AGG GAC AAC GCC AAG AAC TCA CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

      L   R   A   E   D   T   A   V   Y   Y   C   A   R   CDR3
256     CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAA GGG TAT AGC
                                     E   G   Y   S

      S   S   W   S   Y   Y   Y   G   M   D   V   W   G   Q   G   T   T
307     AGC AGC TGG TCC TAC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG

      V   T   V   S   S
358     GTC ACC GTC TCC TCA
```

图6A

J 区段: JK5

1	E	I	V	L	T	Q	S	P	G	T	L	S	L	S	P	G	E		
	GAA	ATT	GTG	TTG	ACG	CAG	TCT	CCA	GGC	ACC	CTG	TCT	TTG	TCT	CCA	GGG	GAA		
							CDR1												
52	R	A	T	L	S	C	R	A	S	Q	S	V	S	S	S	Y	L		
	AGA	GCC	ACC	CTC	TCC	TGC	AGG	GCC	AGT	CAG	AGT	GTT	AGC	AGC	AGC	TAC	TTA		
103	A	W	Y	Q	Q	K	P	G	Q	A	P	R	L	L	I	Y	G		
	GCC	TGG	TAC	CAG	CAG	AAA	CCT	GGC	CAG	GCT	CCC	AGG	CTC	CTC	ATC	TAT	GGT		
	CDR2																		
154	A	S	S	R	A	T	G	I	P	D	R	F	S	G	S	G	S		
	GCA	TCC	AGC	AGG	GCC	ACT	GGC	ATC	CCA	GAC	AGG	TTC	AGT	GGC	AGT	GGG	TCT		
205	G	T	D	F	T	L	T	I	S	R	L	E	P	E	D	F	A		
	GGG	ACA	GAC	TTC	ACT	CTC	ACC	ATC	AGC	AGA	CTG	GAG	CCT	GAA	GAT	TTT	GCA		
	CDR3																		
256	V	Y	Y	C	Q	Q	Y	G	S	S	P	I	T	F	G	Q	G		
	GTG	TAT	TAC	TGT	CAG	CAG	TAT	GGT	AGC	TCA	CCG	ATC	ACC	TTC	GGC	CAA	GGG		
307	T	R	L	E	I	K													
	ACA	CGA	CTG	GAG	ATT	AAA													

图6B

3G4_NT_VH1

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTTGTTGCTATTATAAAAGGTGTCCAGTGTCCAGGTGCAGCTGGTGGAG
TCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGAC
TACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATTATTAGTACTAGTGGTAGT
ATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCC
TACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

3G4_AA_VH1

MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKGLEWVSFISTSGS
IIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGYSSWSYYYGMDVWGQGTITVTVSS

3G4_NT_VK1

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTG
GAGATTAAA

3G4_AA_VK1

METPAQLLFLLLLLWLPD TTGEIVLTQSPGTL SLS PGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPITFGQGRLEIK

图6C

抗-TIM-3 17C8 VH1

V 区段 : 3-11

D 区段 : 6-19

J 区段 : JH6b

1	Q	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	K	P	G	G	S
	CAG	GTG	CAG	CTG	GTG	GAG	TCT	GGG	GGA	GGC	TTG	GTC	AAG	CCT	GGA	GGG	TCC
52	L	R	L	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<u>CDR1</u>			
	CTG	AGA	CTC	TCC	TGT	GCA	GCC	TCT	GGA	TTC	ACC	TTC	AGT	GAC	TAC	TAC	ATG
103	S	W	I	R	Q	A	P	G	K	G	L	E	W	V	S	F	I
	AGC	TGG	ATC	CGC	CAG	GCT	CCA	GGG	AAG	GGG	CTG	GAG	TGG	GTT	TCA	TTC	ATT
154	<u>CDR2</u>																
	S	S	S	G	S	I	I	Y	Y	A	D	S	V	K	G	R	F
	AGT	AGT	AGT	GGT	AGT	ATC	ATA	TAC	TAC	GCA	GAC	TCT	GTG	AAG	GGC	CGA	TTC
205	T	I	S	R	D	N	A	K	N	S	L	Y	L	Q	M	N	S
	ACC	ATC	TCC	AGG	GAC	AAC	GCC	AAG	AAC	TCA	CTG	TAT	CTG	CAA	ATG	AAC	AGC
256	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	<u>CDR3</u>			
	CTG	AGA	GCC	GAG	GAC	ACG	GCT	GTG	TAT	TAC	TGT	GCG	AGA	GAT	GGG	TAT	AGC
307	S	G	W	E	Y	Y	G	M	D	V	W	G	Q	G	T	T	V
	AGT	GGC	TGG	GAG	TAC	TAC	GGT	ATG	GAC	GTC	TGG	GGC	CAA	GGG	ACC	ACG	GTC
358	T	V	S	S													
	ACC	GTC	TCC	TCA													

图7A

17C8_NT_VH1

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTTGTTGCTATTATAAAAGGTGTCCAGTGTCCAGTGCAGCTGGTGGAG
TCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGAC
TACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATTATTAGTAGTAGTGGTAGT
ATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAG
TACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

17C8_AA_VH1

MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISSSGS
IIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYSSGWEYYGMDVWGQGTTVTVSS

17C8_NT_VK1

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTCACCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTG
GAGATCAAA

17C8_AA_VK1

METPAQLLFLLLLWLDPDTTGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPLTFGGGTKEVIK

图7C

重链可变区的序列比对

	FR1	CDR1	FR2	CDR2	
13A3	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS	SRSYYWCW	IRQPPGKGLEWIG	SIYYSGFT-	59
8B9	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS	--RHYWNW	IRQPPGKGLEWIG	YIHYSGST-	57
8C4	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS	--RYYWSW	IRQPPGKGLEWIG	YIHYTGST-	57
17C3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFT	--SYMHVW	RQAPGQGLEWMGI	INPRGDSI	58
9F6	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	--DYYMSW	IRQAPGKGLEWVS	FISGGGSTI	58
3G4	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	--DYYMSW	IRQAPGKGLEWVS	FISTSGSII	58
17C8	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS	--DYYMSW	IRQAPGKGLEWVS	FISSSGSII	58
	: :*	:*	:*:*:*:*:*:*:	* *	

	CDR2	FR3	CDR3	
13A3	YYNPSSLKSR	VTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAT	---GG---PYGDYAHWFDP	112
8B9	NYNPSSLKSR	VTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD	---TG---YYG-----MDI	106
8C4	NYNPSSLKSR	VTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATD	---TG---YYG-----MDV	106
17C3	IYAQKFQGR	VTMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARD	DFYGSNGY-YYG-----MDV	112
9F6	YYADSVKGR	FTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARD	DYSSGWY-YYG-----MDV	112
3G4	YYADSVKGR	FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD	EGYSSWSY-YYG-----MDV	113
17C8	YYADSVKGR	FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD	DYSSGWE-YYG-----MDV	112
	* . . . *	* : : : . *	***** . ** : *	

	FR4	
13A3	WGQCTLVTVSS	123
8B9	WGQGTTVTVSS	117
8C4	WGQCTTVTVSS	117
17C3	WGQGTTVTVSS	123
9F6	WGQGTAVTVSS	123
3G4	WGQGTTVTVSS	124
17C8	WGQGTTVTVSS	123

图8A

SEQ ID NO:									
	VH	CDR1	CDR2	CDR3	VH 变体				
13A3.	34	41	46	53	112 (N60Q)	113 (N60S)	114 (N60A)	115 (D101E)	116 (P102V)
					117 (P102Y)	118 (P102L)	119 (N60Q, P102Y)	364 (N60Q, D101E)	
8B9.	35	42	47	54	120 (S61P)				
8C4.	36	43	48	55					
17C3.	37	44	49	56					
9F6.	38	45	50	57	121 (A108T)				
3G4.	39	45	51	58					
17C8.	40	45	52	59					

轻链可变区的序列比对

图9A

轻链序列指定

	SEQ ID NO:			
	VL	CDR1	CDR2	CDR3
13A3	60	64	66	68
8B9	61	64	66	69
8C4	61	64	66	69
17C3	60	64	66	68
9F6 (VK1)	62	65	67	70
9F6 (VK2)	63	64	66	71
9F6 (VK3)	61	64	66	69
3G4	60	64	66	68
17C8.	61	64	66	69

图9B

13A3. IgG1. 3f及其变体的重链的序列比对

TIM3.5	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.11	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.12	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.13	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.10	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.18	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.14	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.16	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.15	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>
TIM3.17	<u>QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY</u>

TIM3.5	<u>YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.11	<u>YPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.12	<u>YAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.13	<u>YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.10	<u>YQPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.18	<u>YQPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.14	<u>YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.16	<u>YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.15	<u>YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
TIM3.17	<u>YQPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGTLT</u>
	* *****; *****
TIM3.5	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.11	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.12	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.13	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.10	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.18	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.14	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.16	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.15	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.17	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>

TIM3.5	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.11	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.12	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.13	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.10	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.18	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.14	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.16	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.15	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.17	<u>QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>

TIM3.5	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.11	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.12	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.13	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.10	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.18	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.14	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.16	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.15	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.17	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>

图10

```
TIM3.5      QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.11     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.12     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.13     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.10     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.18     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.14     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.16     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.15     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.17     QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
*****

TIM3.5      REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.11     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.12     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.13     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.10     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.18     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.14     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.16     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.15     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.17     REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
*****

TIM3.5      SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.11     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.12     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.13     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.10     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.18     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.14     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.16     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.15     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.17     SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
*****
```

图10(续)

9F6. IgG1. 3f及其变体 (A108T) 的重链的序列比对

9F6	<u>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIYY</u>
TIM3.7	<u>QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIYY</u> *****
9F6	<u>ADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVT</u>
TIM3.7	<u>ADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVT</u> *****: **
9F6	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u>
TIM3.7	<u>VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL</u> *****
9F6	<u>QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u>
TIM3.7	<u>QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA</u> *****
9F6	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u>
TIM3.7	<u>EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE</u> *****
9F6	<u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS</u>
TIM3.7	<u>QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS</u> *****
9F6	<u>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK</u>
TIM3.7	<u>REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK</u> *****
9F6	<u>SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
TIM3.7	<u>SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u> *****

图11

8B9. IgG1. 3f及其变体 (S61P) 的重链的序列比对

8B9	<u>QVQLQESGPGLVKPESETLSLTCTVSGGSISRHYWNWIRQPPGKGLEWIGYIHYSGSTNYN</u>
TIM3.8	<u>QVQLQESGPGLVKPESETLSLTCTVSGGSISRHYWNWIRQPPGKGLEWIGYIHYSGSTNYN</u> *****
8B9	<u>SSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTGYYGMDIWGQGTTVTVSSAST</u>
TIM3.8	<u>PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDTGYYGMDIWGQGTTVTVSSAST</u> .
8B9	KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
TIM3.8	KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY *****
8B9	SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV
TIM3.8	SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV *****
8B9	FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
TIM3.8	FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY *****
8B9	RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
TIM3.8	RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK *****
8B9	NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
TIM3.8	NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG *****
8B9	NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.8	NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK *****

图12

H.n.*	Rec. Ab 名称	重链										轻链																																																			
		VH					HC 同种型					VL																																																			
		HC	VH	CDR1	CDR2	CDR3	HC	同种型	LC	VL	CDR1	CDR2	CDR3	LC同种型																																																	
13A3	-	301, 302	34	41	46	53	hIgG4	29	VK1	64	66	68	h κ																																																		
-	TIM3.5-IgG1.1f	1, 8*	112		122		lgG1.1f																																																								
	13A3-IgG1.1f						lgG1.3f																																																								
	13A3-IgG1.3f						lgG4																																																								
	13A3-IgG4P						lgG1.1f																																																								
	TIM3.10-IgG1.1f	72, 82		123		lgG1.3f																																																									
	(13A3 VH-N60Q)					lgG4P																																																									
	TIM3.10-IgG1.3f					lgG1.1f																																																									
	TIM3.10-IgG4P					lgG1.3f																																																									
	TIM3.11-IgG1.1f	73, 83	113		124																lgG1.3f																																										
	(13A3 VH-N60S)																				lgG4P																																										
	TIM3.11-IgG1.3f																				lgG1.1f																																										
	TIM3.11-IgG4P																				lgG1.3f																																										
	TIM3.12-IgG1.1f	74, 84	114		46	126															lgG1.1f																																										
	(13A3 VH-N60A)																				lgG1.3f																																										
	TIM3.12-IgG1.3f																				lgG4P																																										
	TIM3.12-IgG4P																				lgG1.1f																																										
	TIM3.13-IgG1.1f	75, 85	115		127																lgG1.3f																																										
	(13A3 VH-D101E)																				lgG4P																																										
	TIM3.13-IgG1.3f																				lgG1.1f																																										
	TIM3.13-IgG4P																				lgG1.3f																																										
	TIM3.14-IgG1.1	76, 86	116		128																lgG1.1f																																										
	(13A3 VH-P102V)																				lgG1.3f																																										
	TIM3.14-IgG1.3f																				lgG4P																																										
	TIM3.14-IgG4P																				lgG1.1f																																										
	TIM3.15-IgG1.1f	77, 87	117		129																lgG1.3f																																										
	(13A3 VH-P102Y)																				lgG4P																																										
	TIM3.15-IgG1.3f																				lgG1.1f																																										
	TIM3.15-IgG4P																				lgG1.3f																																										
	TIM3.16-IgG1.1f	78, 88	118																		lgG1.1f																																										
	(13A3 VH-P102L)																				lgG1.3f																																										
	TIM3.16-IgG1.3f	98, 108											lgG1.3f																																																		

图13

H.n.*		Rec. Ab 名称	重链										轻链				
			VH					HC 同种型	LC	VL				LC 同种型			
		HC	VH	CDR1	CDR2	CDR3		HC 同种型	LC	VL	VL	CDR1	CDR2	CDR3			
		TIM3.16-IgG4P	317, 318					lgG4P									
		TIM3.17-IgG1.1f (13A3 VH-N60Q,P102Y)	79, 89	119	122	128		lgG1.1f									
		TIM3.17-IgG1.3f	99, 109					lgG1.3f									
		TIM3.17-IgG4P	319, 320					lgG4P									
			TIM3.18-IgG1.1f (13A3-VH-N60Q, D101E)	349, 350	364		126		lgG1.1f								
		TIM3.18-IgG1.3f (13A3-VH-N60Q, D101E)	351, 352					lgG1.3f									
		TIM3.18-IgG4P (13A3-VH-N60Q, D101E)	353, 354					lgG4P									
8B9		-	321, 322	35	42	47	54	lgG1za	30	VK1	61			69			
		8B9-IgG1.1f	2,9					lgG1.1f									
		8B9-IgG1.3f	16,23					lgG1.3f									
		8B9-IgG4P	323, 324				125	lgG4P									
		TIM3.8-IgG1.1f (8B9 VH S61P)	80,90	120				lgG1.1f									
		TIM3.8-IgG1.3f	100,110					lgG1.3f									
		TIM3.8-IgG4P	325, 326					lgG4P									
8C4		-	327, 328	36	43	48	55	lgG1za									
		TIM3.6-IgG1.1f (8C4)	3,10					lgG1.1f									
		TIM3.6-IgG1.3f	17,24					lgG1.3f									
		TIM3.6-Ig4P	329, 330					lgG4P									
		-	331, 332	37	44	49	56	lgG1za	29	VK1	60			68			

图13(续)

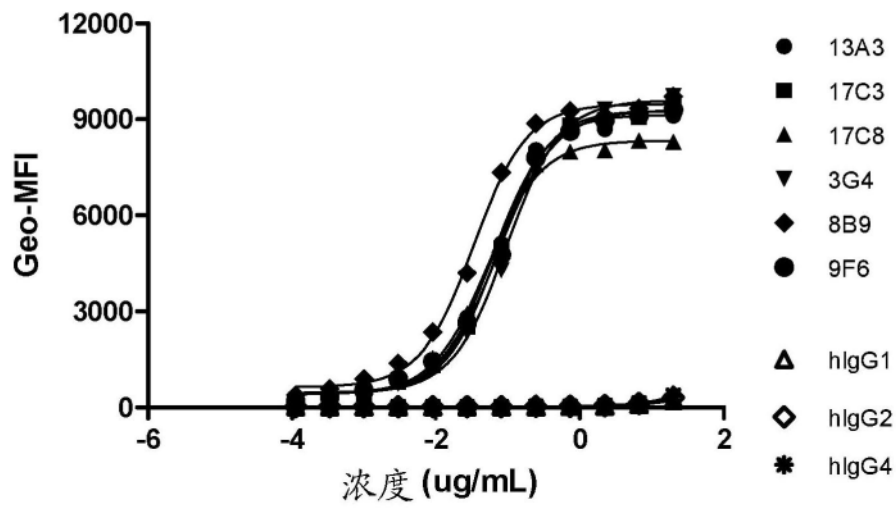
H.n.*	Rec. Ab 名称	重链										轻链					
		VH				HC 同种型				LC		VL				LC 同种型	
		HC	CDR1	CDR2	CDR3	HC 同种型	CDR1	CDR2	CDR3	VL	VL	VL	CDR1	CDR2	CDR3	LC 同种型	
9F6	TIM3.2-IgG1.1f (17C3- IgG1.1f)	4,11				lgG1.1f											
	TIM3.2-IgG1.3f	18,25				lgG1.3f											
	TIM3.2-IgG4P	333, 334				lgG4P											
	-	335, 336	45	50	57	lgG1za				32	VK1	62	65	67	70		
-	9F6-IgG1.1f	5,12				lgG1.1f				33	VK2	63	64	66	71		
	9F6-IgG1.3f	19,26				lgG1.3f				31	VK3	61			69		
	9F6-Ig4P	337, 338				lgG4P				33	VK2	63			71		
	TIM3.7-IgG1.1f (9F6 VK2 VH-A108T)	81,91	121			lgG1.1f											
3G4	TIM3.7-IgG1.3f	101,111				lgG1.3f											
	TIM3.7-IgG4P	339, 340				lgG4P											
	-	341, 342	39	51	58	lgG1za				29	VK1	60			68		
	TIM3.4-IgG1.1f 3G4-IgG1.1f	6,13				lgG1.1f											
-	TIM3.4-IgG1.3f	20,27				lgG1.3f											
	TIM3.4-IgG4P	343, 344				lgG4P											

图13(续)

H.n.*	Rec. Ab 名称	重链										轻链					
		VH					HC 同种型	VL					LC 同种型				
		HC	VH	CDR1	CDR2	CDR3		LC	VL	VL	CDR1	CDR2		CDR3			
17C8	-	345, 346	40		52	59	lgG4	30	VK1	61							
-	TIM3.9-IgG1.1f (17C8)	7,14					lgG1.1f										
	TIM3.9-IgG1.3f	21,28					lgG1.3f										
	TIM3.9-IgG4P	347, 348					lgG4P										

图13 (续)

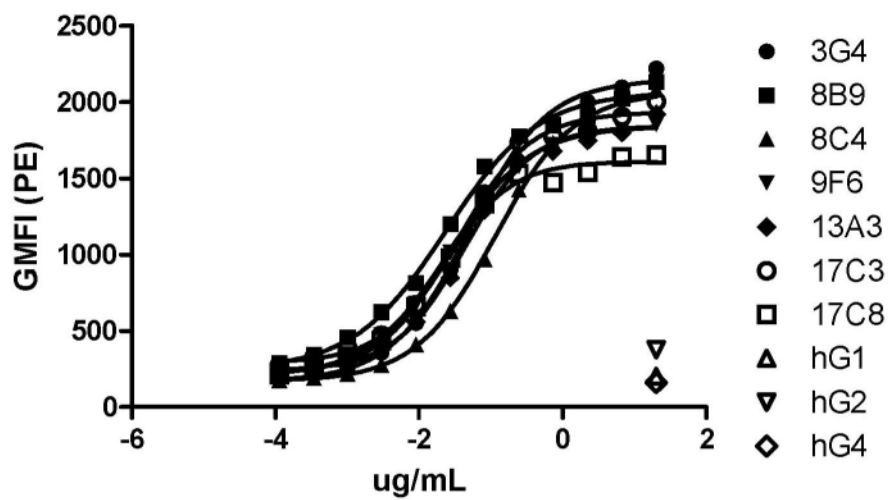
TIM-3抗体与CHO-huTIM3转染子的结合



	EC50
13A3	0.06358
17C3	0.07208
17C8	0.05160
3G4	0.09602
8B9	0.03371
9F6	0.07401
hlgG1	39740
hlgG2	42256
hlgG4	29319

图14A

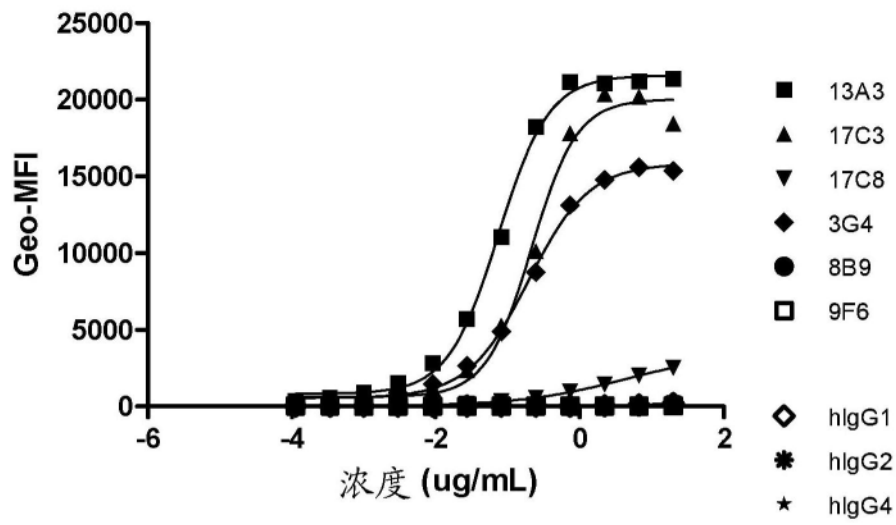
抗TIM-3与活化的人T细胞的结合



	EC50
3G4	0.05043
8B9	0.02392
8C4	0.1149
9F6	0.02660
13A3	0.04274
17C3	0.03621
17C8	0.02083

图14B

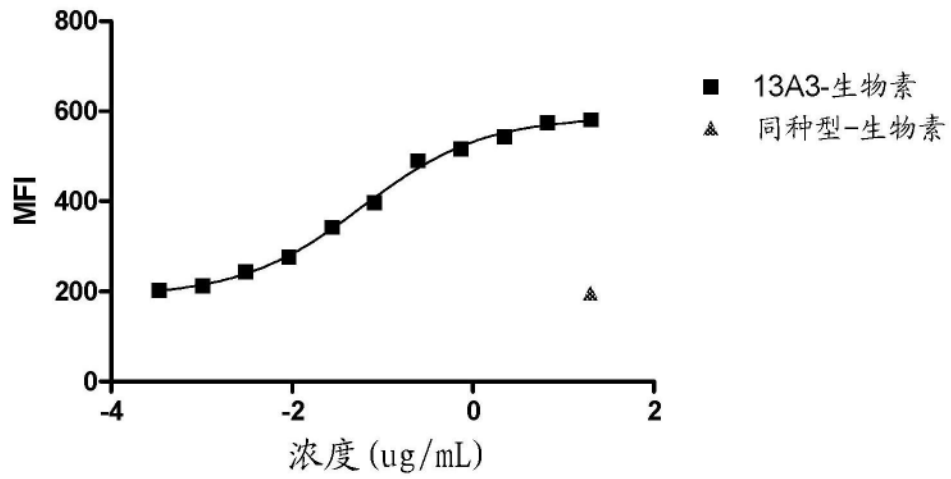
CHO-cynoTIM3 转染子



	EC50
13A3	0.07486
17C3	0.2159
17C8	4.709
3G4	0.1952
8B9	~ 2.532
9F6	~ 7.465
hIgG1	75731
hIgG2	44504
hIgG4	54134

图15A

活化的食蟹猴T细胞



	13A3-生物素
EC50	0.06018

图15B

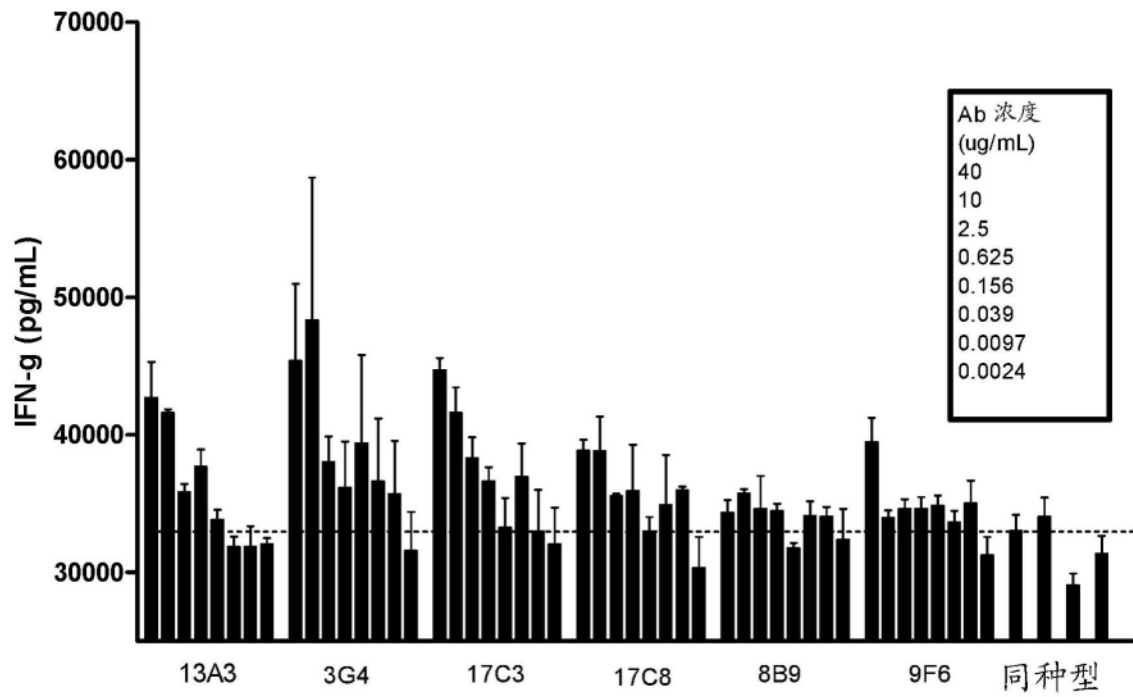


图16

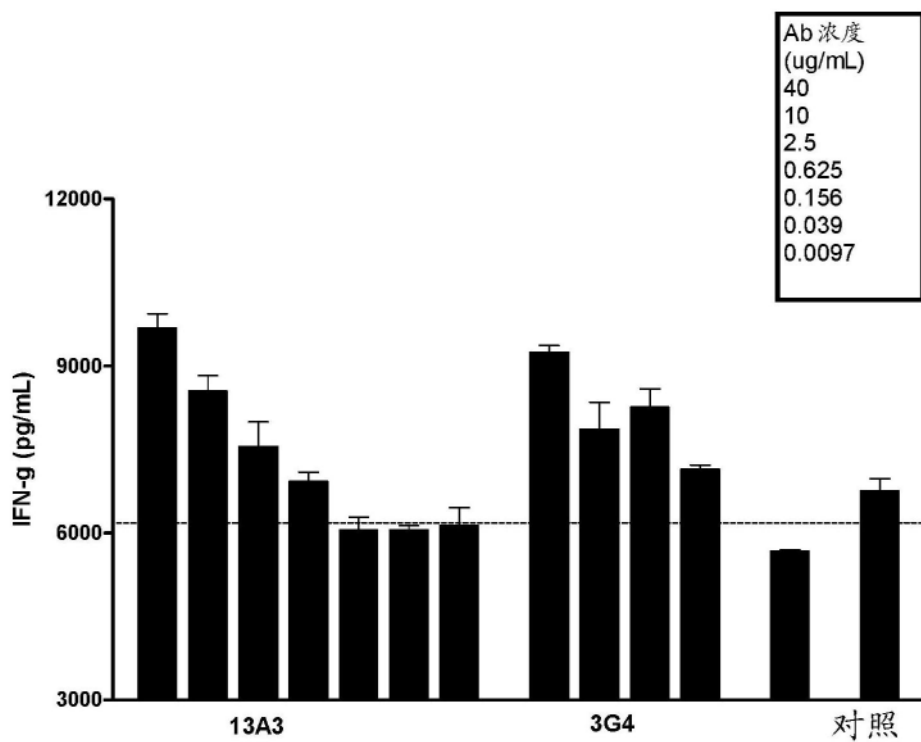


图17A

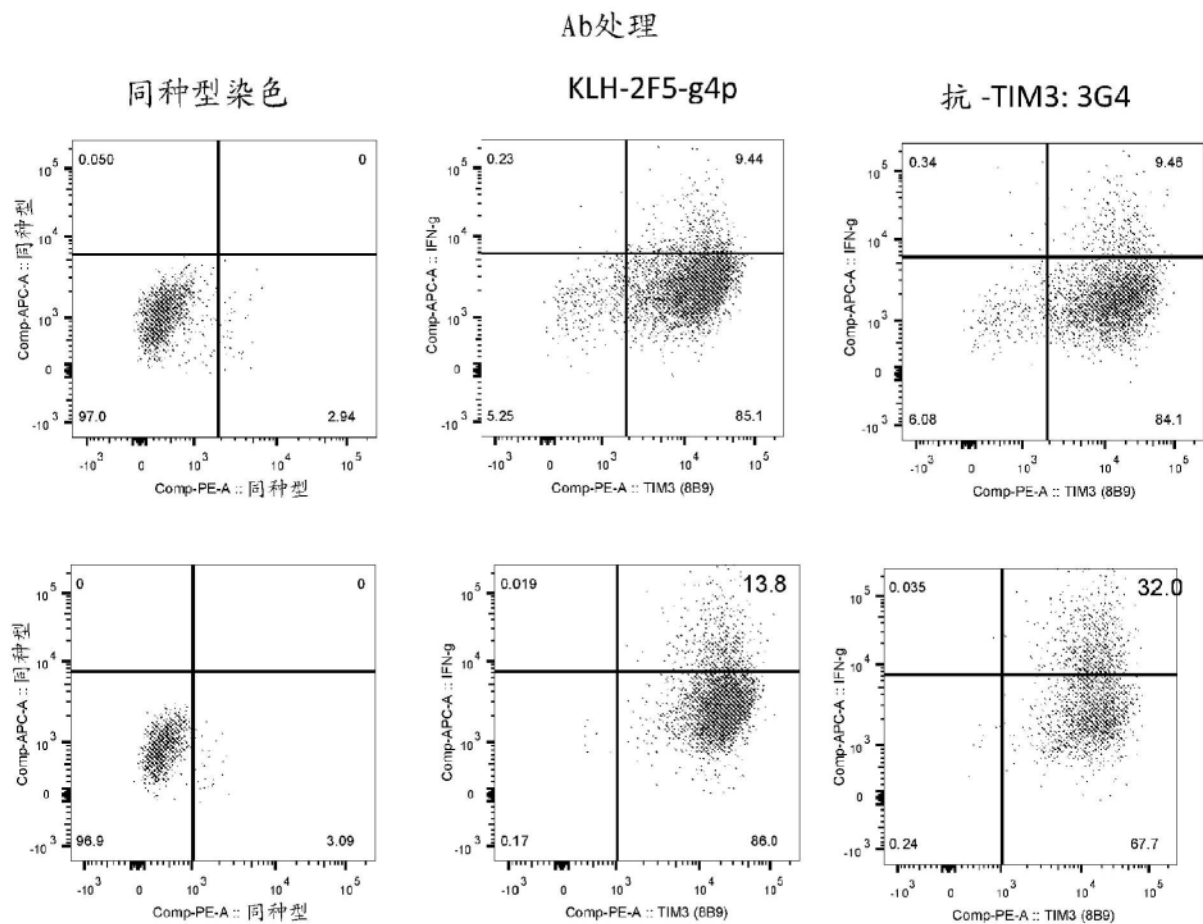


图17B

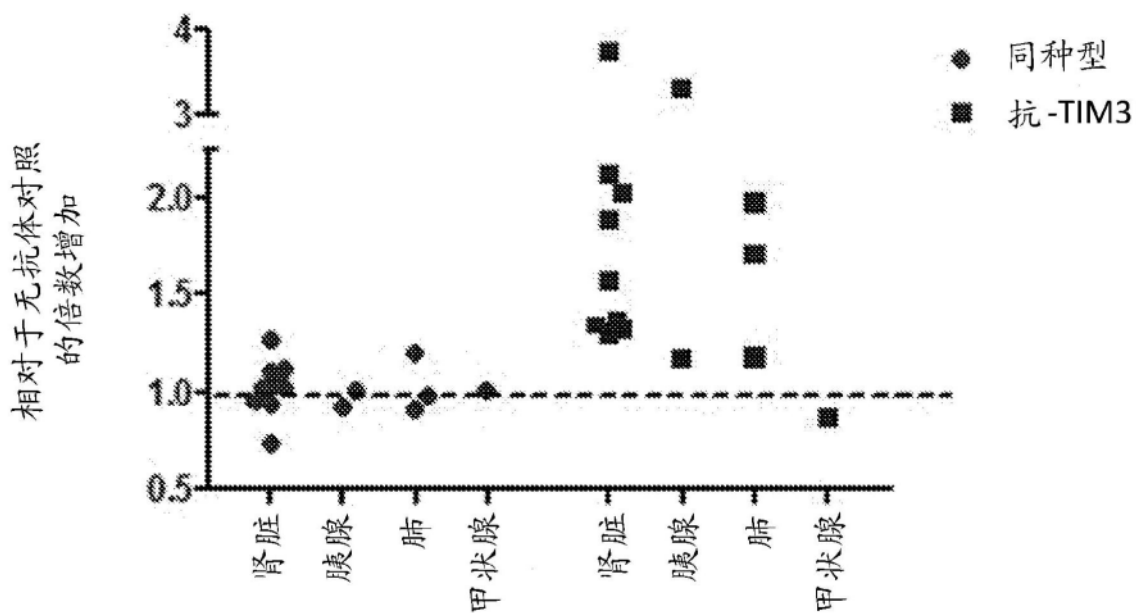


图18

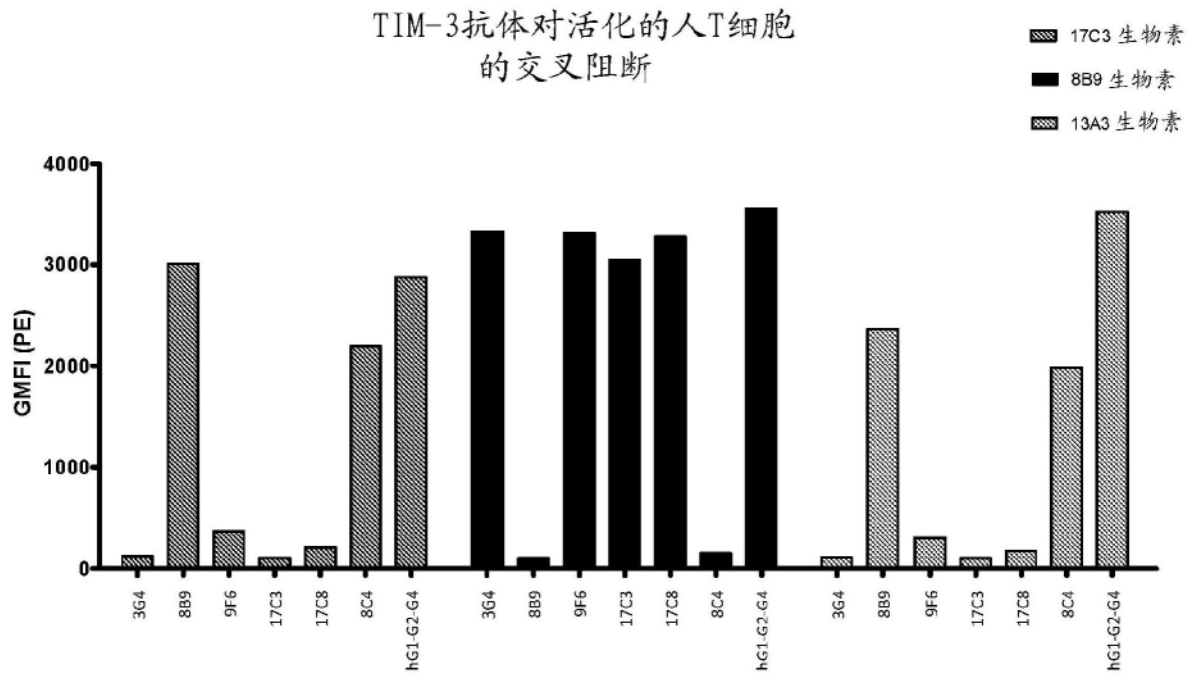


图19

TIM3蛋白上的表位残基

	10	20	30	40	50	60
TIM3	<u>MESHLPFDCV LLLLLLLTR SSEVEYRAEV GQAYLPCFY TPAAPGNLVP VCWKGACPV</u>					
13A3						CP
3G4						CPV
17C3						CPV
8B9						L
	70	80	90	100	110	120
TIM3	FECGNVLR	DERDVNYWTS	RYWLN ¹ GDFRK	GDVSLTIENV	TLADSGIYCC	RIQIPGIMND
13A3	FEC			<u>D</u>	R Q	D
3G4	FEC			D		G M
17C3	FECG			D		G
8B9		W S R WL GD R		D		
	130	140	150	160	170	180
TIM3	EKFNLKLVK	PAKVTPAPTR	QRDFTAAPPR	MLTTRGHGPA	ETQTLGSLPD	INLTQISTLA
13A3						
3G4						
17C3						
8B9						
	190	200	210	220	230	240
TIM3	NELRDSRLAN	DLRDSGATIR	<u>IGIYIGAGIC</u>	AGLALALIFG	ALIFKWYSHS	KEKIQNLSLI
	250	260	270	280	290	300
TIM3	SLANLPPSGL	ANAVAEGIRS	EENIY ¹ TIEEN	VYEVEEPNEY	YCYVSSRQQP	SQPLGCRFAMP

图20

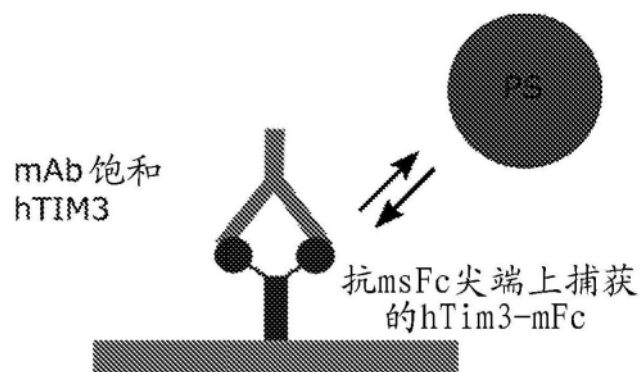
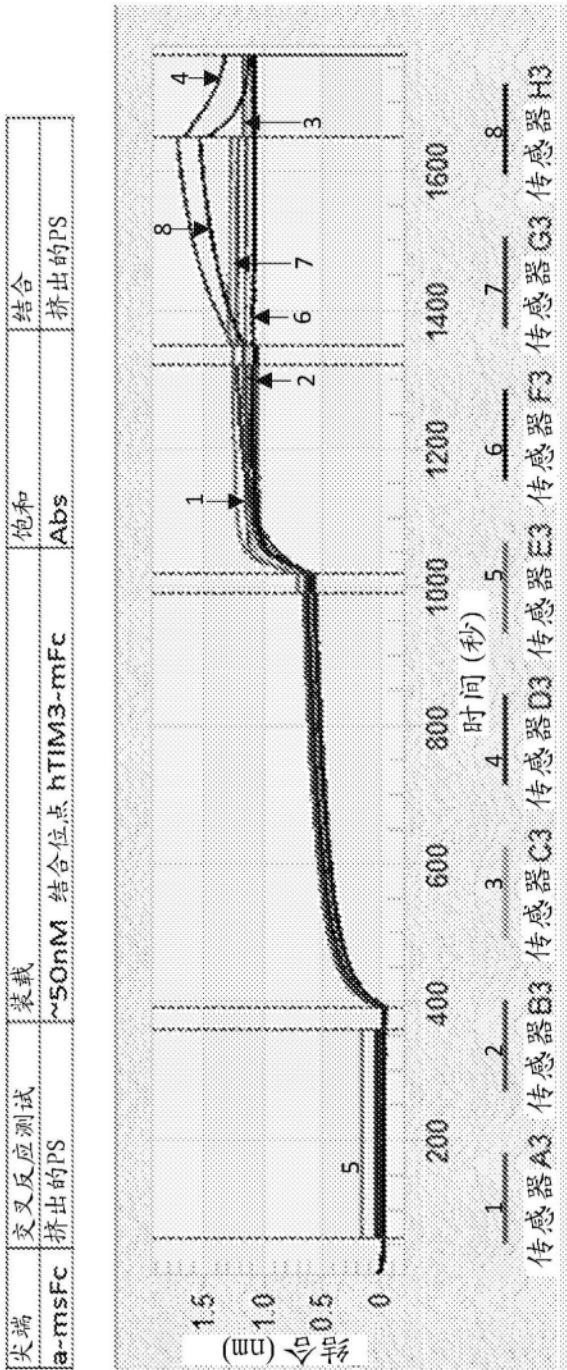


图21A



Octet HTX, 25C, PBS pH 7.4 与 1mg/mL BSA, 捕获的hTIM3-ECD-mFc, 结合的抗TIM3 Ab组, 在1/2稀释度下测试的挤出的PS的结合

图21B

mAb	PS响应 (nm)	PS结合
t=1630s		
3G4	0.0061	否
Ab A	0.4725	是
13A3	0.0003	否
17C3	0.0077	否
17C8	-0.0039	否
Ab B	0.3803	是

mAb	PS响应 (nm)	PS结合
t=1310s		
Ab A	0.084	是
8B9	-0.0103	否
8C4	-0.0158	否
9F6	-0.0302	否
空白1	0.1841	是
空白2	0.1193	是

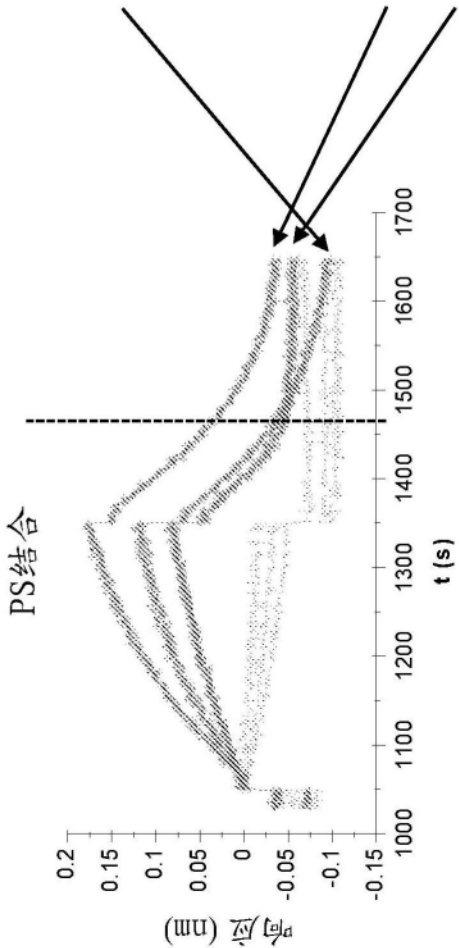
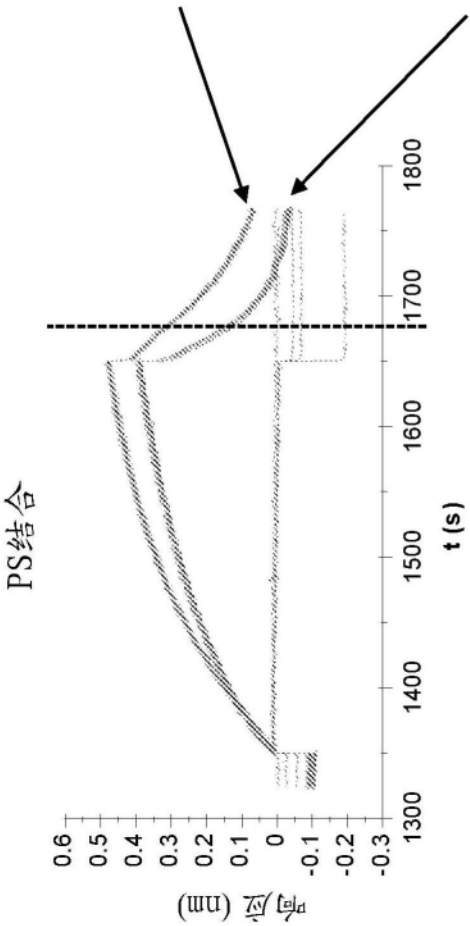


图21B(续)

抗TIM3抗体的功能活性概述

克隆	结合测定 (EC50 nM)				T细胞测定	TIL 测定	PS-TIM3 阻断
	人T细胞 (nM)	食蟹猴T细胞 (nM)	CHO-huTIM (nM)	CHO-cynoTIM3 (nM)			
13A3 (IgG4)	0.27	0.4	0.4	0.47	N/A	剂量依赖性 (Dose dep)	是
3G4 (IgG2)	0.3	非-C	0.67	1.3	剂量依赖性	剂量依赖性	是
17C3 (IgG1)	0.24	非-C	0.47	1.4	剂量依赖性	剂量依赖性	是
17C8 (IgG1)	0.13	非-C	0.33	非-C	剂量依赖性	剂量依赖性	是
9F6 (IgG1)	0.13	非-C	0.47	非-C	弱	无活性	是
8B9 (IgG4)	0.13	非-C	0.2	非-C	弱	无活性	是
8C4 (IgG1)	0.73	非-C	N/A	非-C	弱	无活性	是

图22

通过SEQ ID NO表示的序列的描述

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
1	13A3	IgG1.1f HC	氨基酸
2	8B9	IgG1.1f HC	氨基酸
3	8C4	IgG1.1f HC	氨基酸
4	17C3	IgG1.1f HC	氨基酸
5	9F6	IgG1.1f HC	氨基酸
6	3G4	IgG1.1f HC	氨基酸
7	17C8	IgG1.1f HC	氨基酸
8	13A3	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
9	8B9	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
10	8C4	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
11	17C3	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
12	9F6	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
13	3G4	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
14	17C8	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
15	13A3	IgG1.3f HC	氨基酸
16	8B9	IgG1.3f HC	氨基酸
17	8C4	IgG1.3f HC	氨基酸
18	17C3	IgG1.3f HC	氨基酸
19	9F6	IgG1.3f HC	氨基酸
20	3G4	IgG1.3f HC	氨基酸
21	17C8	IgG1.3f HC	氨基酸
22	13A3	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
23	8B9	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
24	8C4	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
25	17C3	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
26	9F6	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
27	3G4	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
28	17C8	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
29	13A3, 17C3, 3G4	LC	氨基酸
30	8B9, 8C4, 17C8	LC	氨基酸
31	9F6 (VK3)	LC	氨基酸
32	9F6 (VK1)	LC	氨基酸
33	9F6 (VK2)	LC	氨基酸
34	13A3	VH	氨基酸
35	8B9	VH	氨基酸

图23

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
36	8C4	VH	氨基酸
37	17C3	VH	氨基酸
38	9F6	VH	氨基酸
39	3G4	VH	氨基酸
40	17C8	VH	氨基酸
41	13A3, 包括 以下 13A3 变体: N60Q; N60S; N60A; D101E; P102V; P102Y; P102L; N60Q 和 P102Y; N60Q 和 D101E	CDR1 (VH)	氨基酸
42	8B9, 包括 8B9 (S61P) 变体	CDR1 (VH)	氨基酸
43	8C4	CDR1 (VH)	氨基酸
44	17C3	CDR1 (VH)	氨基酸
45	9F6, 包括 9F6 (A108T) 变体 ; 3G4; 17C8	CDR1 (VH)	氨基酸
46	13A3, 包括 以下 13A3 变体: D101E, P102V, P102Y, 和 P102L	CDR2 (VH)	氨基酸
47	8B9	CDR2 (VH)	氨基酸
48	8C4	CDR2 (VH)	氨基酸
49	17C3	CDR2 (VH)	氨基酸
50	9F6, 包括 9F6 (A108T) 变体	CDR2 (VH)	氨基酸
51	3G4	CDR2 (VH)	氨基酸
52	17C8	CDR2 (VH)	氨基酸
53	13A3, 包括 以下 13A3 变体: N60Q, N60S, N60A	CDR3 (VH)	氨基酸
54	8B9, 包括 8B9 (S61P) 变体	CDR3 (VH)	氨基酸
55	8C4	CDR3 (VH)	氨基酸
56	17C3	CDR3 (VH)	氨基酸
57	9F6, 包括 9F6 (A108T) 变体	CDR3 (VH)	氨基酸
58	3G4	CDR3 (VH)	氨基酸

图23(续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
59	17C8	CDR3 (VH)	氨基酸
60	13A3, 17C3, 3G4	VL	氨基酸
61	8B9, 8C4, 17C8, 9F6 (VK3)	VL	氨基酸
62	9F6 (VK1)	VL	氨基酸
63	9F6 (VK2)	VL	氨基酸
64	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR1 (VL)	氨基酸
65	9F6 (VK1)	CDR1 (VL)	氨基酸
66	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR2 (VL)	氨基酸
67	9F6 (VK1)	CDR2 (VL)	氨基酸
68	13A3, 17C3, 3G4	CDR3 (VL)	氨基酸
69	8B9, 8C4, 9F6 (VK3), 17C8	CDR3 (VL)	氨基酸
70	9F6 (VK1)	CDR3 (VL)	氨基酸
71	9F6 (VK2)	CDR3 (VL)	氨基酸
72	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC	氨基酸
73	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC	氨基酸
74	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC	氨基酸
75	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC	氨基酸
76	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC	氨基酸
77	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC	氨基酸
78	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC	氨基酸
79	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC	氨基酸
349	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC	氨基酸
80	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC	氨基酸
81	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC	氨基酸
82	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
83	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
84	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
85	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
86	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
87	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
88	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
89	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
350	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸

图23 (续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
90	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
91	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC (无C末端K)	氨基酸
92	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC	氨基酸
93	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC	氨基酸
94	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC	氨基酸
95	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC	氨基酸
96	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC	氨基酸
97	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC	氨基酸
98	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC	氨基酸
99	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC	氨基酸
351	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC	氨基酸
100	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC	氨基酸
101	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC	氨基酸
102	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
103	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
104	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
105	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
106	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
107	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
108	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
109	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
352	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
110	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
111	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
112	13A3 (N60Q)	VH	氨基酸
113	13A3 (N60S)	VH	氨基酸
114	13A3 (N60A)	VH	氨基酸
115	13A3 (D101E)	VH	氨基酸
116	13A3 (P102V)	VH	氨基酸
117	13A3 (P102Y)	VH	氨基酸
118	13A3 (P102L)	VH	氨基酸
119	13A3 (N60Q, P102Y)	VH	氨基酸
364	13A3 (N60Q, D101E)	VH	氨基酸
120	8B9 (S61P)	VH	氨基酸
121	9F6 (A108T)	VH	氨基酸

图23 (续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
122	13A3 (N60Q); 13A3 (N60Q, P102Y); 13A3 (N60Q, D101E)	CDR2 (VH)	氨基酸
123	13A3 (N60S)	CDR2 (VH)	氨基酸
124	13A3 (N60A)	CDR2 (VH)	氨基酸
125	8B9 (S61P)	CDR2 (VH)	氨基酸
126	13A3 (D101E); 13A3 (N60Q, D101E)	CDR3 (VH)	氨基酸
127	13A3 (P102V)	CDR3 (VH)	氨基酸
128	13A3 (P102Y); 13A3 (N60Q, P102Y)	CDR3 (VH)	氨基酸
129	13A3 (P102L)	CDR3 (VH)	氨基酸
130	所有抗体	HC 恒定结构域 (IgG1.1f)	氨基酸
131	所有抗体	HC 恒定结构域 (IgG1.1f) (无C末端K)	氨基酸
132	所有抗体	HC 恒定结构域 (IgG1.3f)	氨基酸
133	所有抗体	HC 恒定结构域 (IgG1.3f) (无C末端K)	氨基酸
134	13A3	IgG1.1f HC	核苷酸
135	8B9	IgG1.1f HC	核苷酸
136	8C4	IgG1.1f HC	核苷酸
137	17C3	IgG1.1f HC	核苷酸
138	9F6	IgG1.1f HC	核苷酸
139	3G4	IgG1.1f HC	核苷酸
140	17C8	IgG1.1f HC	核苷酸
141	13A3	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
142	8B9	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
143	8C4	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
144	17C3	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
145	9F6	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
146	3G4	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
147	17C8	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
148	13A3	IgG1.3f HC	核苷酸
149	8B9	IgG1.3f HC	核苷酸
150	8C4	IgG1.3f HC	核苷酸
151	17C3	IgG1.3f HC	核苷酸
152	9F6	IgG1.3f HC	核苷酸
153	3G4	IgG1.3f HC	核苷酸
154	17C8	IgG1.3f HC	核苷酸
155	13A3	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
156	8B9	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸

图23 (续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
157	8C4	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
158	17C3	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
159	9F6	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
160	3G4	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
161	17C8	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
162	13A3, 17C3, 3G4	LC	核苷酸
163	8B9, 8C4, 17C8	LC	核苷酸
164	9F6 (VK3)	LC	核苷酸
165	9F6 (VK1)	LC	核苷酸
166	9F6 (VK2)	LC	核苷酸
167	13A3	VH	核苷酸
168	8B9	VH	核苷酸
169	8C4	VH	核苷酸
170	17C3	VH	核苷酸
171	9F6	VH	核苷酸
172	3G4	VH	核苷酸
173	17C8	VH	核苷酸
174	13A3, 包括 以下 13A3 变体 : N60Q; N60S; N60A; D101E; P102V; P102Y; P102L; N60Q 和 P102Y; 13A3 (N60Q, D101E)	CDR1 (VH)	核苷酸
175	8B9, 包括 8B9 (S61P) 变体	CDR1 (VH)	核苷酸
176	8C4	CDR1 (VH)	核苷酸
177	17C3	CDR1 (VH)	核苷酸
178	9F6, 包括 9F6 (A108T) 变体 ; 3G4; 17C8	CDR1 (VH)	核苷酸
179	13A3, 包括 以下 13A3 变体 : D101E, P102V, P102Y, 和 P102L	CDR2 (VH)	核苷酸
180	8B9	CDR2 (VH)	核苷酸
181	8C4	CDR2 (VH)	核苷酸
182	17C3	CDR2 (VH)	核苷酸
183	9F6, 包括 9F6 (A108T) 变体	CDR2 (VH)	核苷酸

图23(续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
184	3G4	CDR2 (VH)	核苷酸
185	17C8	CDR2 (VH)	核苷酸
186	13A3, 包括以下 13A3 变体: N60Q, N60S, N60A	CDR3 (VH)	核苷酸
187	8B9, 包括 8B9 (S61P) 变体	CDR3 (VH)	核苷酸
188	8C4	CDR3 (VH)	核苷酸
189	17C3	CDR3 (VH)	核苷酸
190	9F6, 包括 9F6 (A108T) 变体	CDR3 (VH)	核苷酸
191	3G4	CDR3 (VH)	核苷酸
192	17C8	CDR3 (VH)	核苷酸
193	13A3, 17C3, 3G4	VL	核苷酸
194	8B9, 8C4, 17C8, 9F6 (VK3)	VL	核苷酸
195	9F6 (VK1)	VL	核苷酸
196	9F6 (VK2)	VL	核苷酸
197	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR1 (VL)	核苷酸
198	9F6 (VK1)	CDR1 (VL)	核苷酸
199	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR2 (VL)	核苷酸
200	9F6 (VK1)	CDR2 (VL)	核苷酸
201	13A3, 17C3, 3G4	CDR3 (VL)	核苷酸
202	8B9, 8C4, 9F6 (VK3), 17C8	CDR3 (VL)	核苷酸
203	9F6 (VK1)	CDR3 (VL)	核苷酸
204	9F6 (VK2)	CDR3 (VL)	核苷酸
205	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC	核苷酸
206	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC	核苷酸
207	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC	核苷酸
208	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC	核苷酸
209	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC	核苷酸
210	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC	核苷酸
211	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC	核苷酸
212	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC	核苷酸
355	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC	核苷酸

图23 (续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
213	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC	核苷酸
214	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC	核苷酸
215	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
216	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
217	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
218	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
219	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
220	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
221	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
222	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
356	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
223	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
224	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC (无C末端K)	核苷酸
225	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC	核苷酸
226	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC	核苷酸
227	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC	核苷酸
228	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC	核苷酸
229	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC	核苷酸
230	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC	核苷酸
231	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC	核苷酸
232	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC	核苷酸
357	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC	核苷酸
233	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC	核苷酸
234	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC	核苷酸
235	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
236	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
237	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
238	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
239	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
240	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
241	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
242	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
358	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
374	13A3 (N60Q, D101E) (TIM3.18) (T168C)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
243	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
244	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸

图23 (续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
245	13A3 (N60Q)	VH	核苷酸
246	13A3 (N60S)	VH	核苷酸
247	13A3 (N60A)	VH	核苷酸
248	13A3 (D101E)	VH	核苷酸
249	13A3 (P102V)	VH	核苷酸
250	13A3 (P102Y)	VH	核苷酸
251	13A3 (P102L)	VH	核苷酸
252	13A3 (N60Q, P102Y)	VH	核苷酸
359	13A3 (N60Q, D101E)	VH	核苷酸
253	8B9 (S61P)	VH	核苷酸
254	9F6 (A108T)	VH	核苷酸
255	13A3 (N60Q); 13A3 (N60Q, P102Y); 13A3 (N60Q, D101E)	CDR2 (VH)	核苷酸
256	13A3 (N60S)	CDR2 (VH)	核苷酸
257	13A3 (N60A)	CDR2 (VH)	核苷酸
258	8B9 (S61P)	CDR2 (VH)	核苷酸
259	13A3 (D101E)	CDR3 (VH)	核苷酸
260	13A3 (P102V)	CDR3 (VH)	核苷酸
261	13A3 (P102Y); 13A3 (N60Q, P102Y); 13A3 (N60Q, D101E)	CDR3 (VH)	核苷酸
262	13A3 (P102L)	CDR3 (VH)	核苷酸
263	所有抗体	HC 恒定结构域 (IgG1.1f)	核苷酸
264	所有抗体	HC 恒定结构域 (IgG1.1f) (无C末端K)	核苷酸
265	所有抗体	HC 恒定结构域 (IgG1.3f)	核苷酸
266	所有抗体	HC 恒定结构域 (IgG1.3f) (无C末端K)	核苷酸
267		信号肽	氨基酸
268		信号肽	氨基酸
269		信号肽	氨基酸
270		信号肽	氨基酸
271		信号肽	氨基酸
361		信号肽 (TIM3.2-TIM3.18)	氨基酸
272		信号肽	核苷酸
273		信号肽	核苷酸
274		信号肽	核苷酸
275		信号肽	核苷酸
276		信号肽	核苷酸

图23(续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
362		信号肽 (TIM3.2-TIM3.18 HC)	核苷酸
363		信号肽 (TIM3.2-TIM3.18 LC)	核苷酸
277		人 IgG1 (同种异型变体)	氨基酸
278		人 IgG1 κ 轻链	氨基酸
279		LSPGK (重链的C末端)	氨基酸
280		LSPG (重链的C末端)	氨基酸
281		LSP (重链的C末端)	氨基酸
282		X1X2X3X4YX5X6 (VH CDR1 简并序列)	氨基酸
283		X1IX2X3X4GX5X6X7X8YX9X10X11X12X13X14 (VH CDR2 简并序列)	氨基酸
284		X1X2X3X4X5X6YGX7X8X9X10YGX11X12DX13X14X15X16X17X18 (VH CDR3 简并序列)	氨基酸
285		QQX1X2SX3X4X5T (VL CDR1 简并序列)	氨基酸
286		TIM3 同种型 1 (aa)	氨基酸
287		TIM3 同种型 2 (aa)	氨基酸
288		TIM3 同种型 1 (nt)	核苷酸
289		TIM3 同种型 2 (nt)	核苷酸
290		TIM3的胞外结构域	氨基酸
291		WT人IgG1恒定结构域 (与IgG1za相同)	氨基酸
292		人 IgG4 恒定结构域	氨基酸
293		9F6 VK2 IgG1 轻链	氨基酸
294		IgG1.1 恒定结构域 (抗TIM3抗体中使用)	氨基酸
295		IgG1.3 恒定结构域 (抗TIM3抗体中使用)	氨基酸
296		成熟TIM3 ECD的残基 37-43	氨基酸
297		成熟TIM3 ECD的残基 57-83	氨基酸
298		成熟TIM3 ECD的残基 90-99	氨基酸
299		成熟TIM3 ECD的残基 1-99	氨基酸
300		接头	氨基酸
360		食蟹猴TIM3蛋白	氨基酸
301	13A3	hIgG4 HC	氨基酸
302	13A3	hIgG4 HC (无C末端K)	氨基酸
303	TIM3.5 – 13A3	IgG4P HC	氨基酸
304	TIM3.5 – 13A3	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
305	TIM3.10 – 13A3 (N60Q)	IgG4P HC	氨基酸
306	TIM3.10 – 13A3 (N60Q)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
307	TIM3.11 – 13A3 (N60S)	IgG4P HC	氨基酸

图23 (续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
308	TIM3.11 – 13A3 (N60S)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
309	TIM3.12 – 13A3 (N60A)	IgG4P HC	氨基酸
310	TIM3.12 – 13A3 (N60A)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
311	TIM3.13 – 13A3 (D101E)	IgG4P HC	氨基酸
312	TIM3.13 – 13A3 (D101E)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
313	TIM 3.14 – 13A3 (P102V)	IgG4P HC	氨基酸
314	TIM 3.14 – 13A3 (P102V)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
315	TIM3.15 – 13A3 (P102Y)	IgG4P HC	氨基酸
316	TIM3.15 – 13A3 (P102Y)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
317	TIM3.16 – 13A3 (P102L)	IgG4P HC	氨基酸
318	TIM3.16 – 13A3 (P102L)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
319	TIM3.17 – 13A3 (N60Q, P102Y)	IgG4P HC	氨基酸
320	TIM3.17 – 13A3 (N60Q, P102Y)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
353	TIM3.18 – 13A3 (N60Q, D101E)	IgG4P HC	氨基酸
354	TIM3.18 – 13A3 (N60Q, D101E)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
321	8B9	IgG1za HC	氨基酸
322	8B9	IgG1za HC (无C末端K)	氨基酸
323	8B9	IgG4P HC	氨基酸
324	8B9	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
325	TIM3.8 – 8B9 (S61P)	IgG4P HC	氨基酸
326	TIM3.8 – 8B9 (S61P)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
327	8C4	IgG1za HC	氨基酸
328	8C4	IgG1za HC (无C末端K)	氨基酸
329	TIM3.6 – 8C4	IgG4P HC	氨基酸
330	TIM3.6 – 8C4	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
331	17C3	IgG1za HC	氨基酸
332	17C3	IgG1za HC (无C末端K)	氨基酸
333	TIM3.2 – 17C3	IgG4P HC	氨基酸
334	TIM3.2 – 17C3	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
335	9F6	IgG1za HC	氨基酸

图23 (续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
336	9F6	IgG1za HC (无C末端K)	氨基酸
337	9F6	IgG4P HC	氨基酸
338	9F6	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
339	TIM3.7 – 9F6 (A108T)	IgG4P HC	氨基酸
340	TIM3.7 – 9F6 (A108T)	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
341	3G4	IgG1za HC	氨基酸
342	3G4	IgG1za HC (无C末端K)	氨基酸
343	TIM3.4 – 3G4	IgG4P HC	氨基酸
344	TIM3.4 – 3G4	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
345	17C8	IgG4 HC	氨基酸
346	17C8	IgG4 HC	氨基酸
347	TIM3.9 – 17C8	IgG4P HC	氨基酸
348	TIM3.9 – 17C8	IgG4P HC (无C末端K)	氨基酸
365	13A3	重链 Fab 6X His	氨基酸
366	TIM3.18 – 13A3 (N60Q, D101E)	重链 ab 6X His	氨基酸
367		成熟TIM3胞外结构域的残基49–62	氨基酸
368		成熟TIM3胞外结构域的残基111–127	氨基酸
369		成熟TIM3胞外结构域的残基40–62	氨基酸
370		成熟TIM3胞外结构域的残基66–77	氨基酸
371		成熟TIM3胞外结构域的残基78–95	氨基酸
372		成熟TIM3胞外结构域的残基110–127	氨基酸
373		成熟TIM3胞外结构域的残基119–127	氨基酸
375		hTIM3-mFc	氨基酸
376		Cyno TIM3-MycHisAvi	氨基酸
377		hTIM3 ₁ -IgV	氨基酸
378	TIM3.18 – 13A3 (N60Q, D101E)	具有信号肽的 IgG1.3f HC	氨基酸
379	TIM3.18 – 13A3 (N60Q, D101E)	具有信号肽的 IgG1.3f HC (无C末端K)	氨基酸
380	TIM3.18 – 13A3 (N60Q, D101E)	具有信号序列的 IgG1.3f HC	核苷酸
381	TIM3.18 – 13A3 (N60Q, D101E)	具有信号序列的 IgG1.3f HC (无C末端K)	核苷酸
382	TIM3.18 – 13A3 (N60Q, D101E)	具有信号序列的 IgG1.3f HC (T168C)	核苷酸

图23(续)

SEQ ID NO.	抗体	描述	AA/NT
383	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	具有信号序列的 IgG1.3f HC (T168C) (无C末端K)	核苷酸
384	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	具有信号肽的LC	氨基酸
385	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	具有信号序列的LC	核苷酸

图23(续)

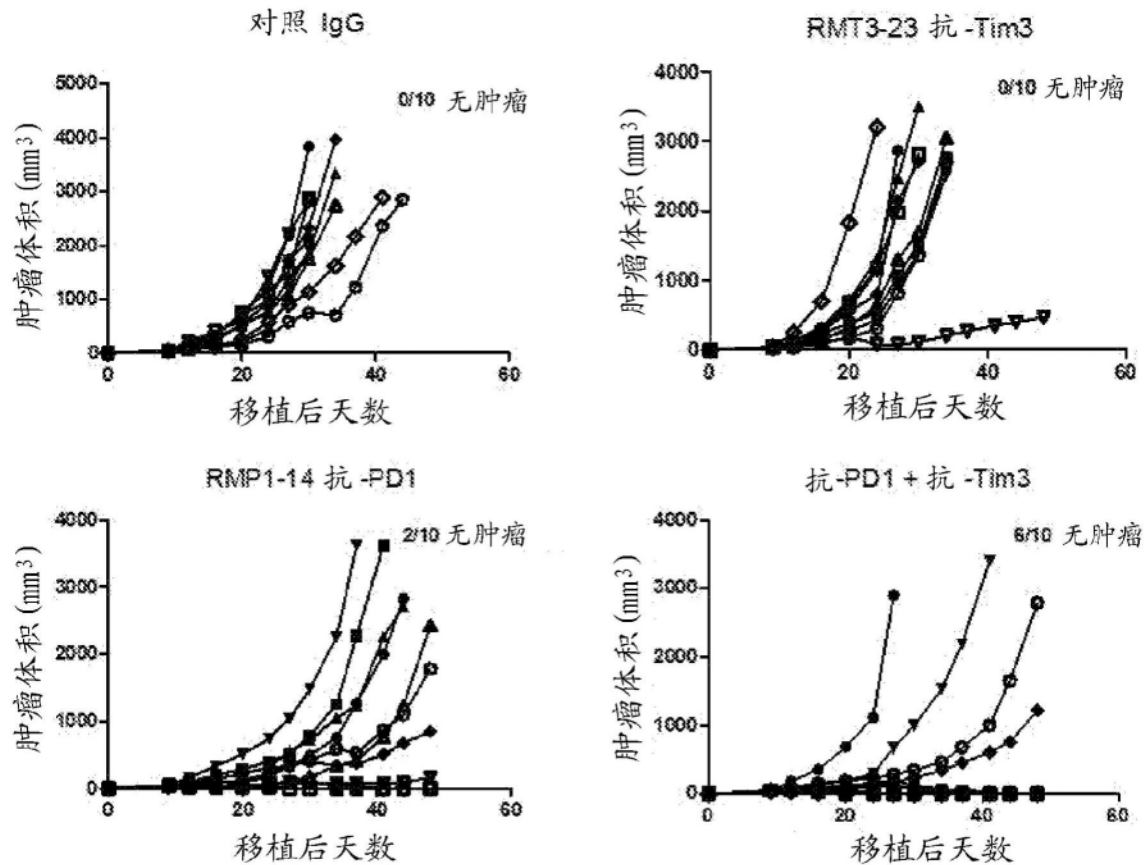


图24A

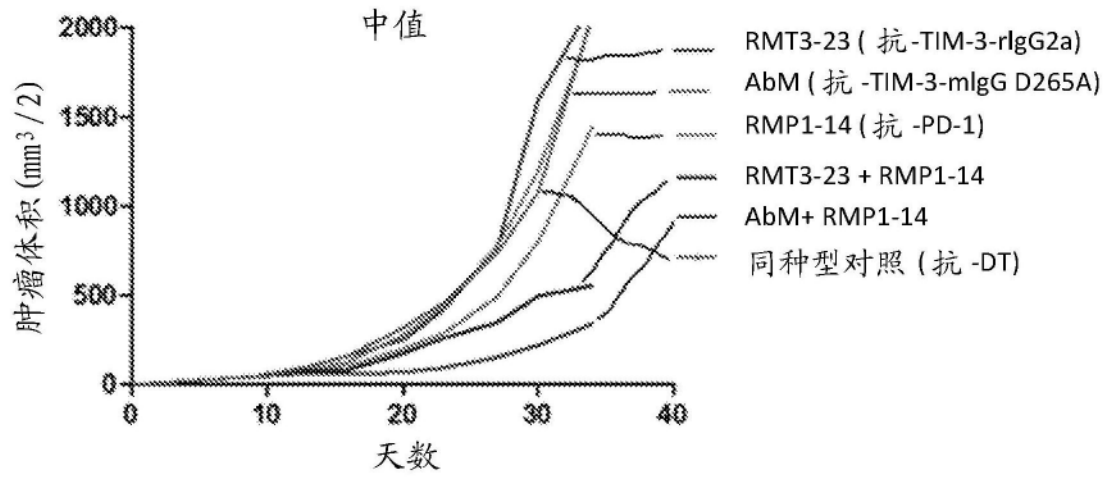


图24B

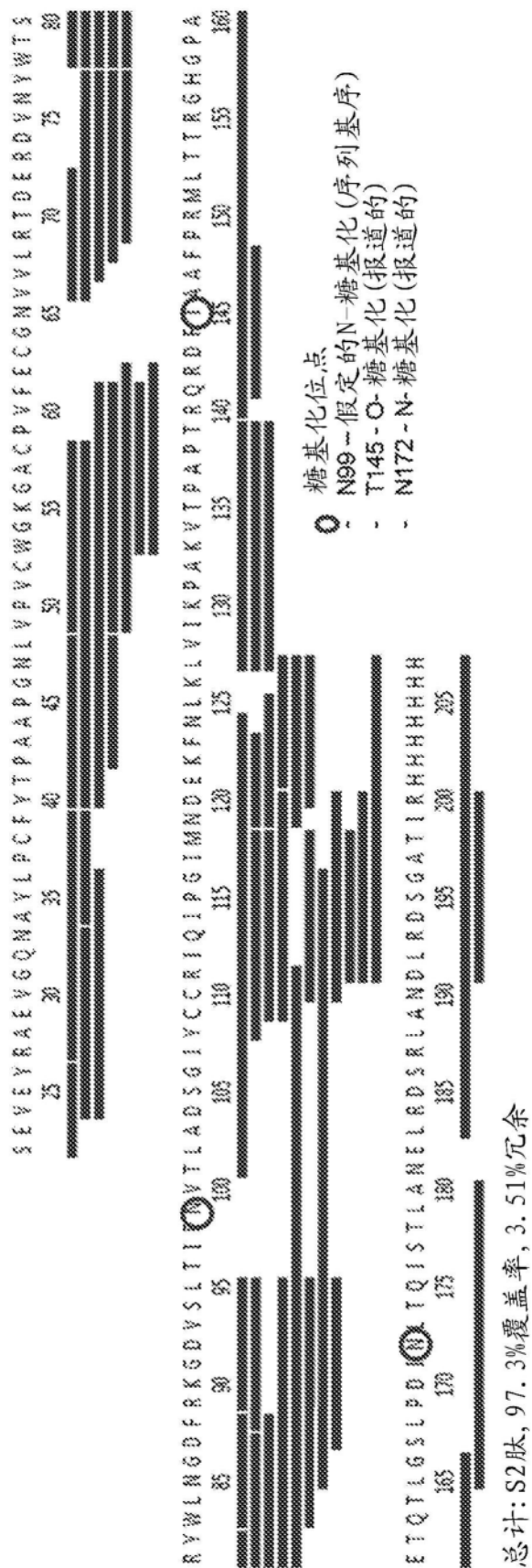


图25

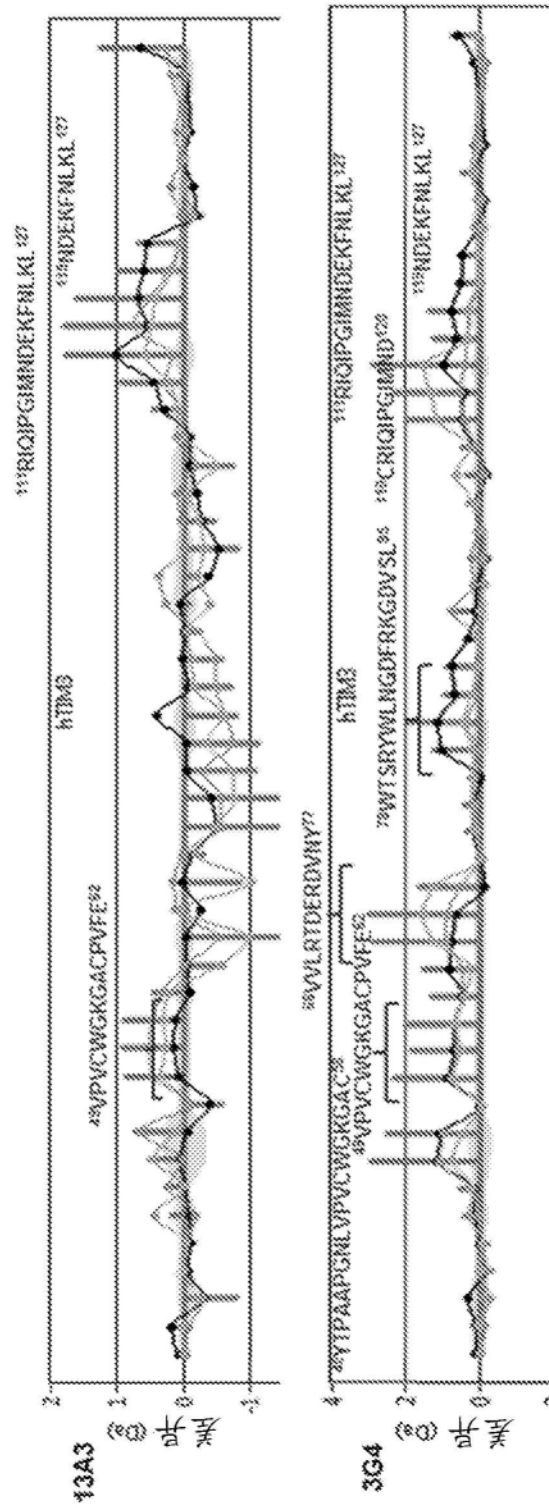


图26

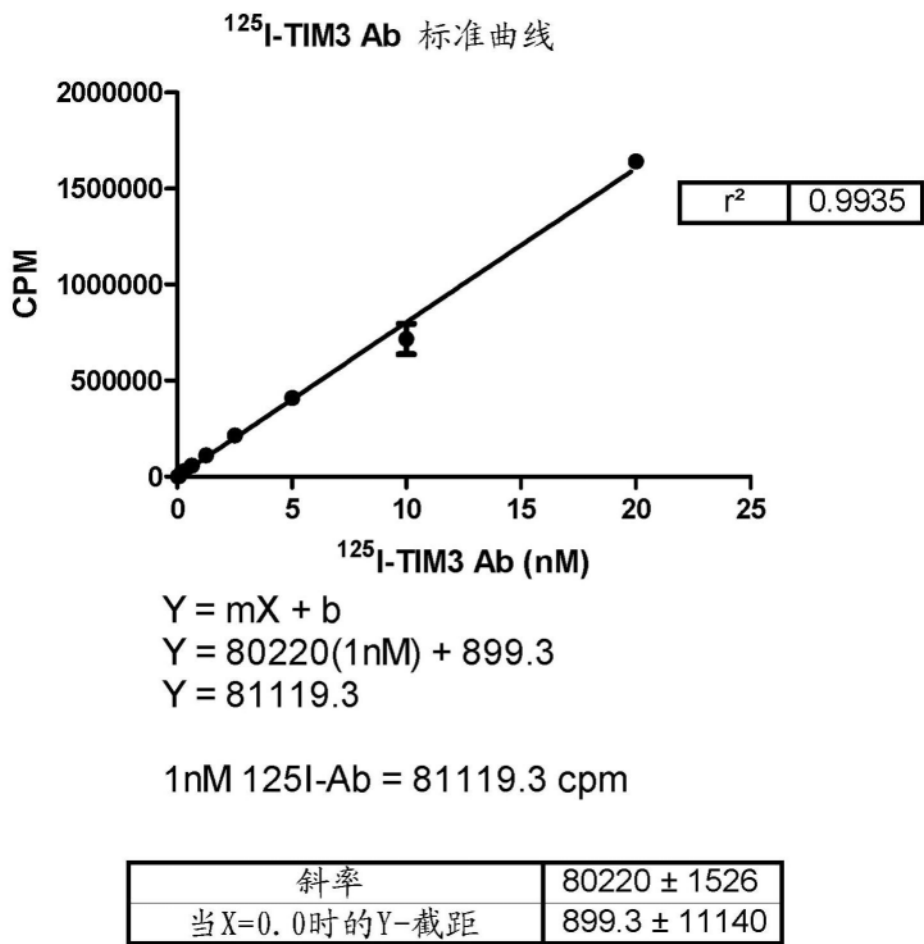
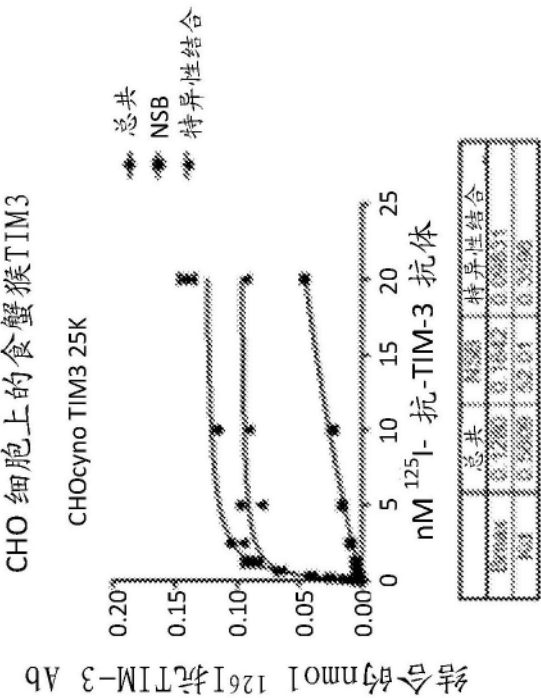
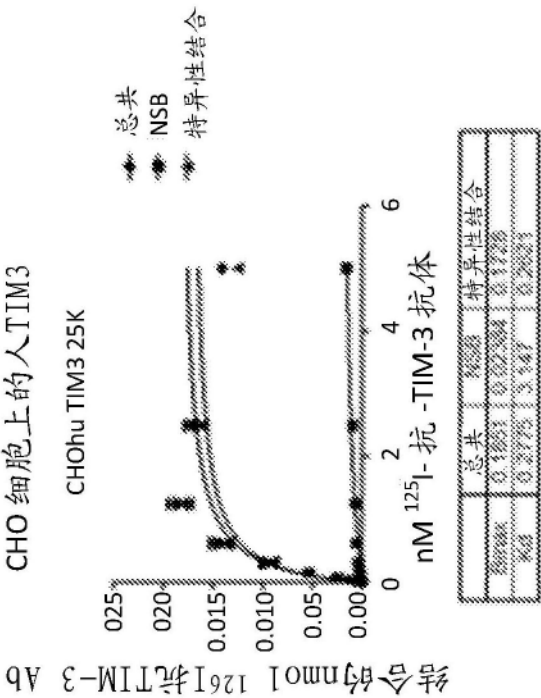


图27A



对于过表达的食蟹猴TIM3的亲合力为0.36-0.48nM

235,944 受体/细胞



对于过表达的人TIM3的亲合力为0.26-0.48nM

414,720 受体/细胞

图27B

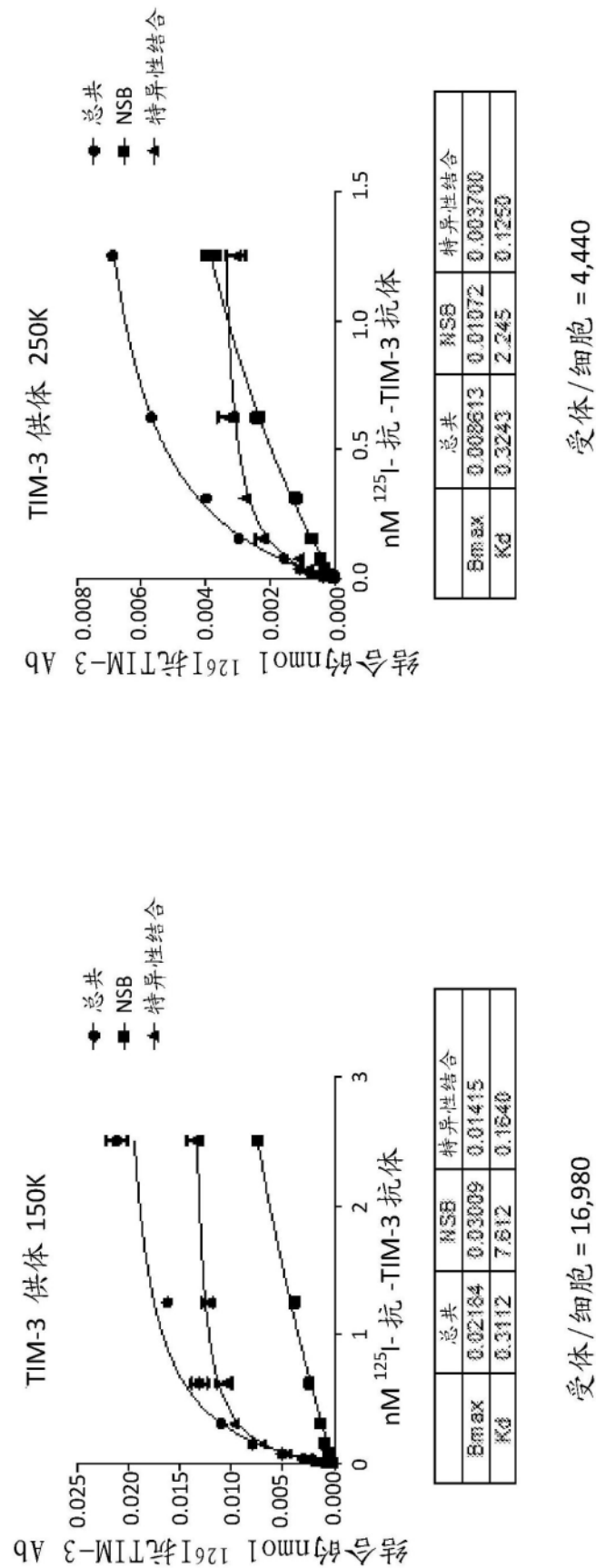


图28

224

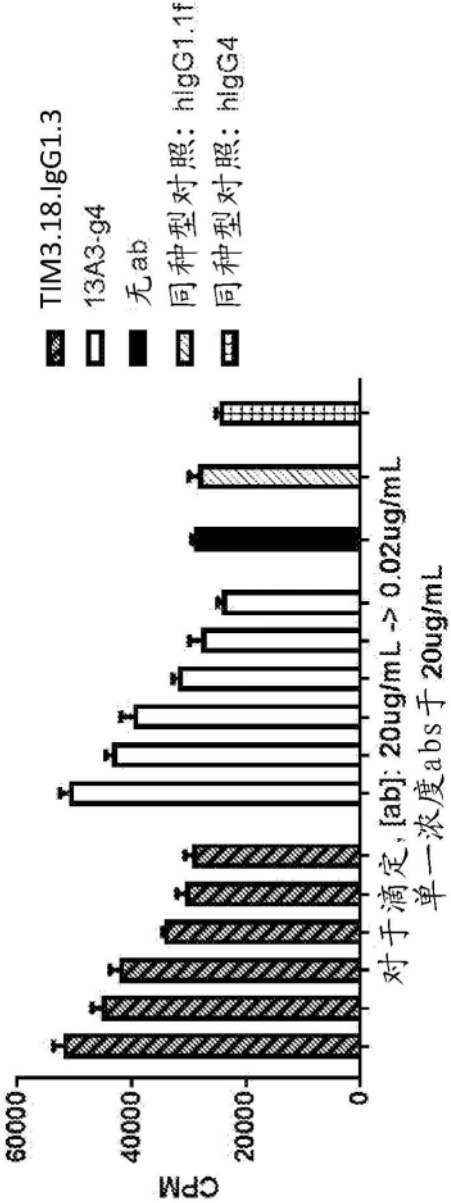


图29A

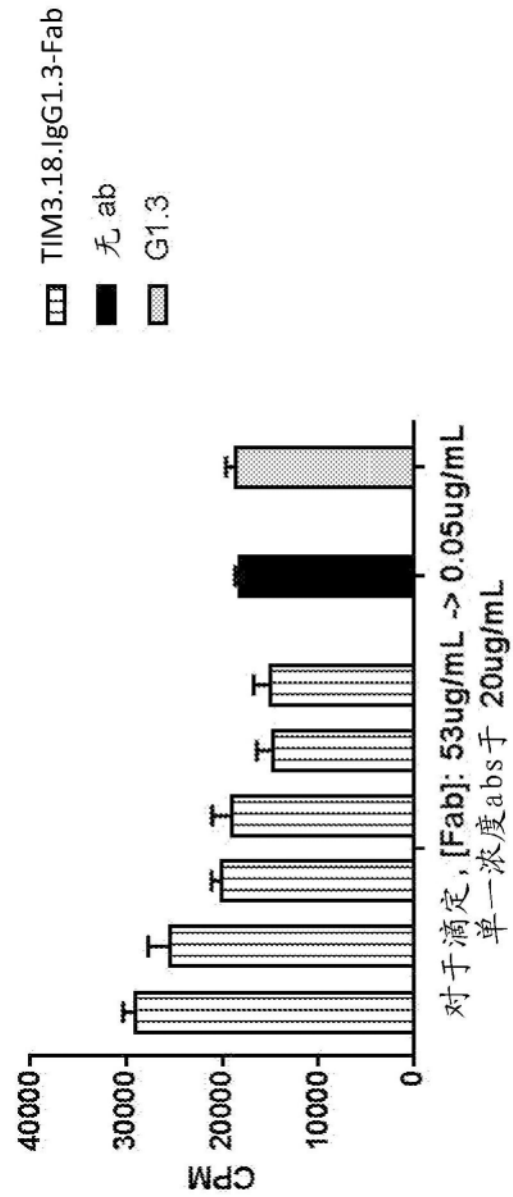


图29B

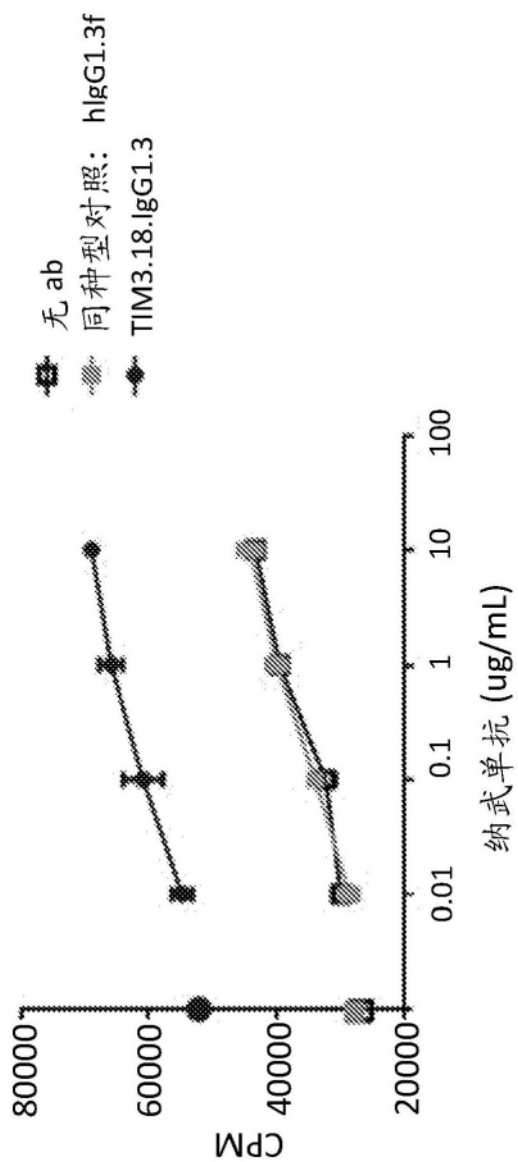


图30

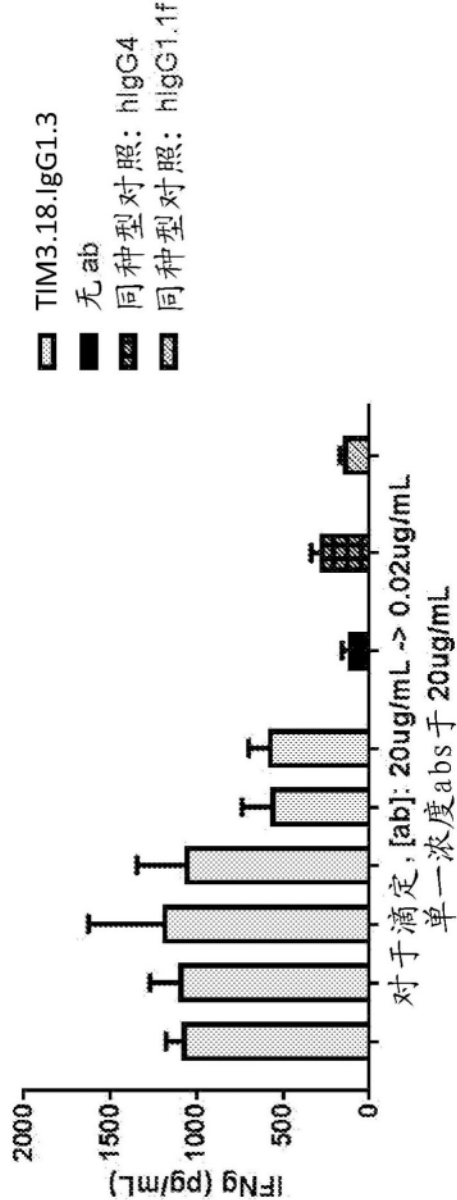


图31

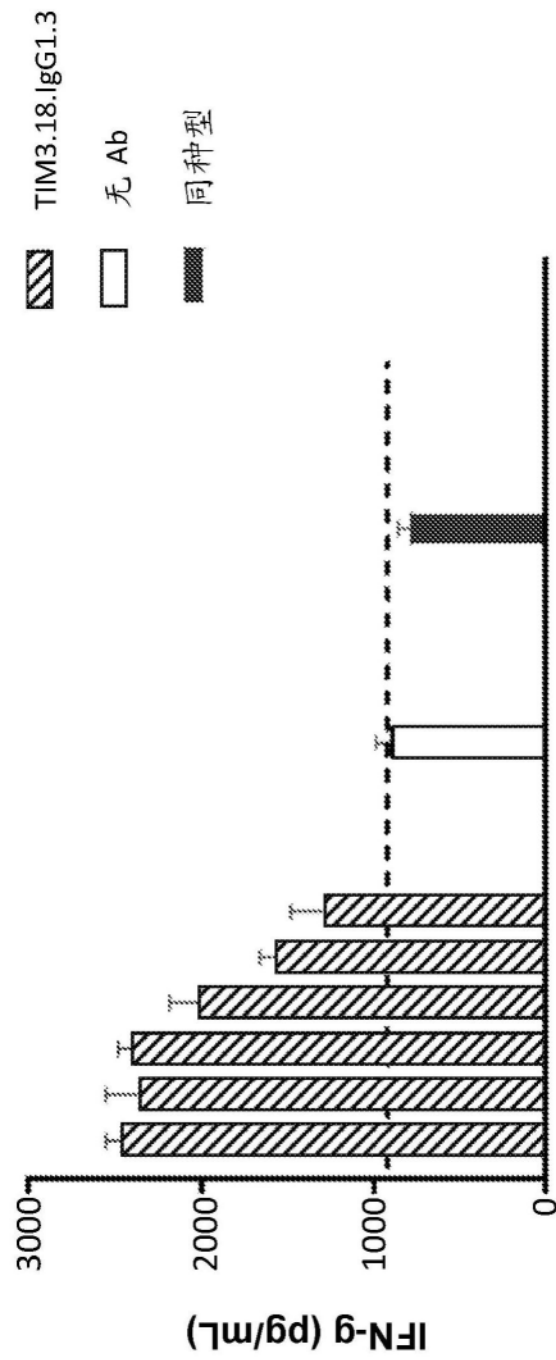


图32

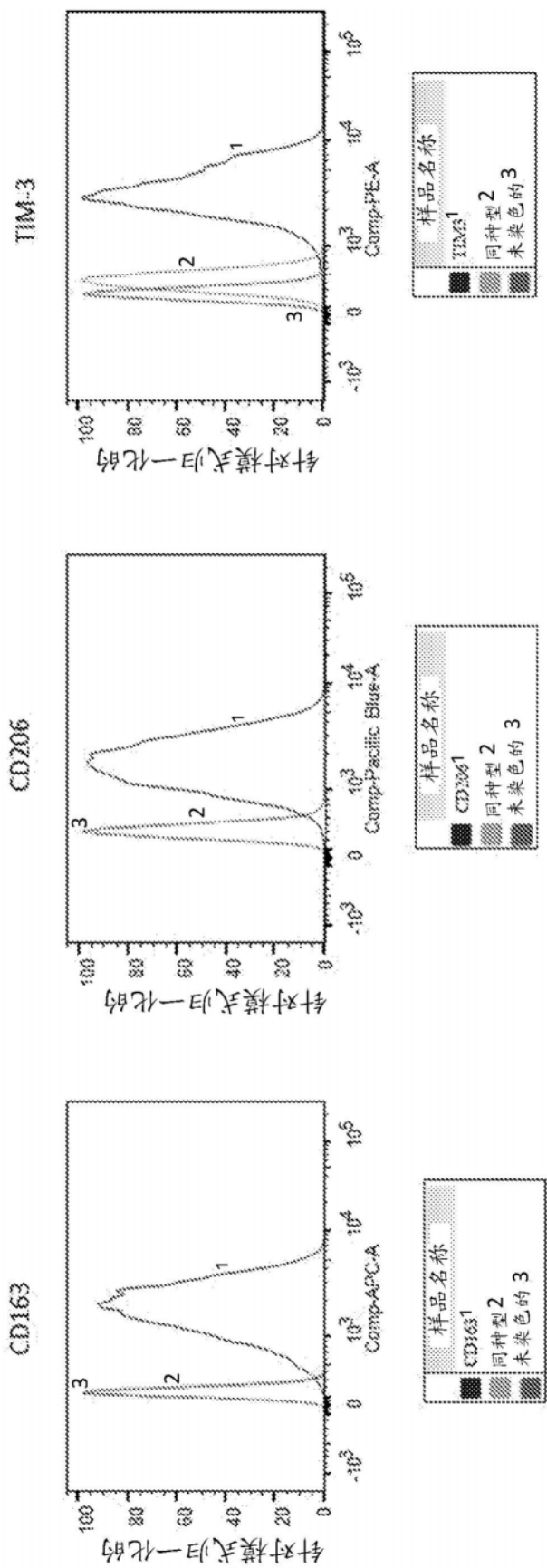


图33

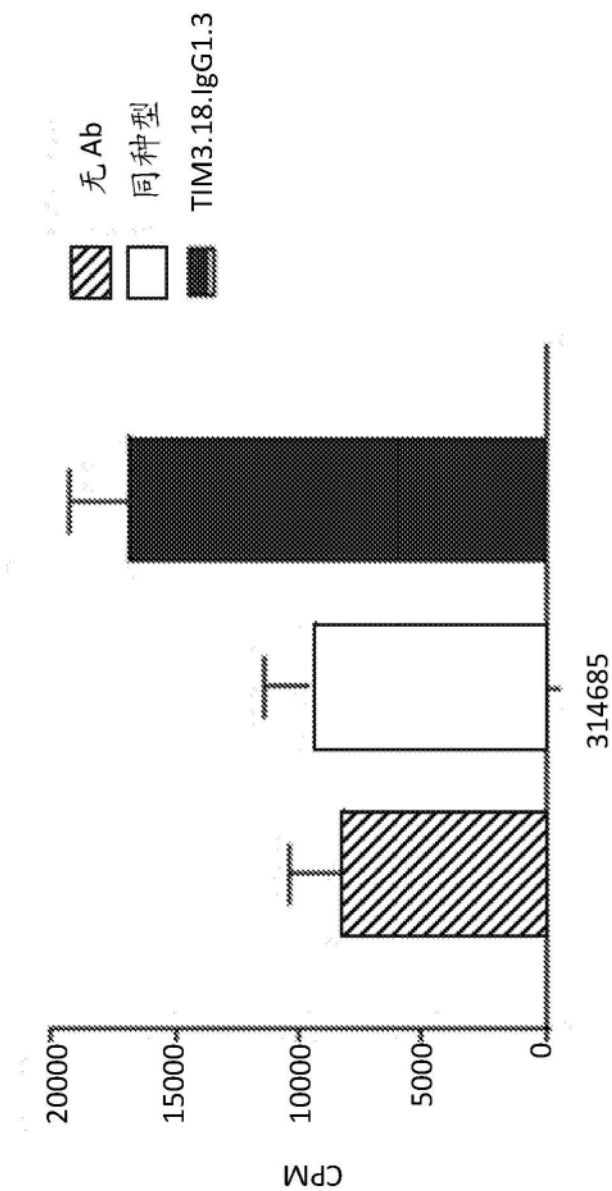


图34



图35



图36

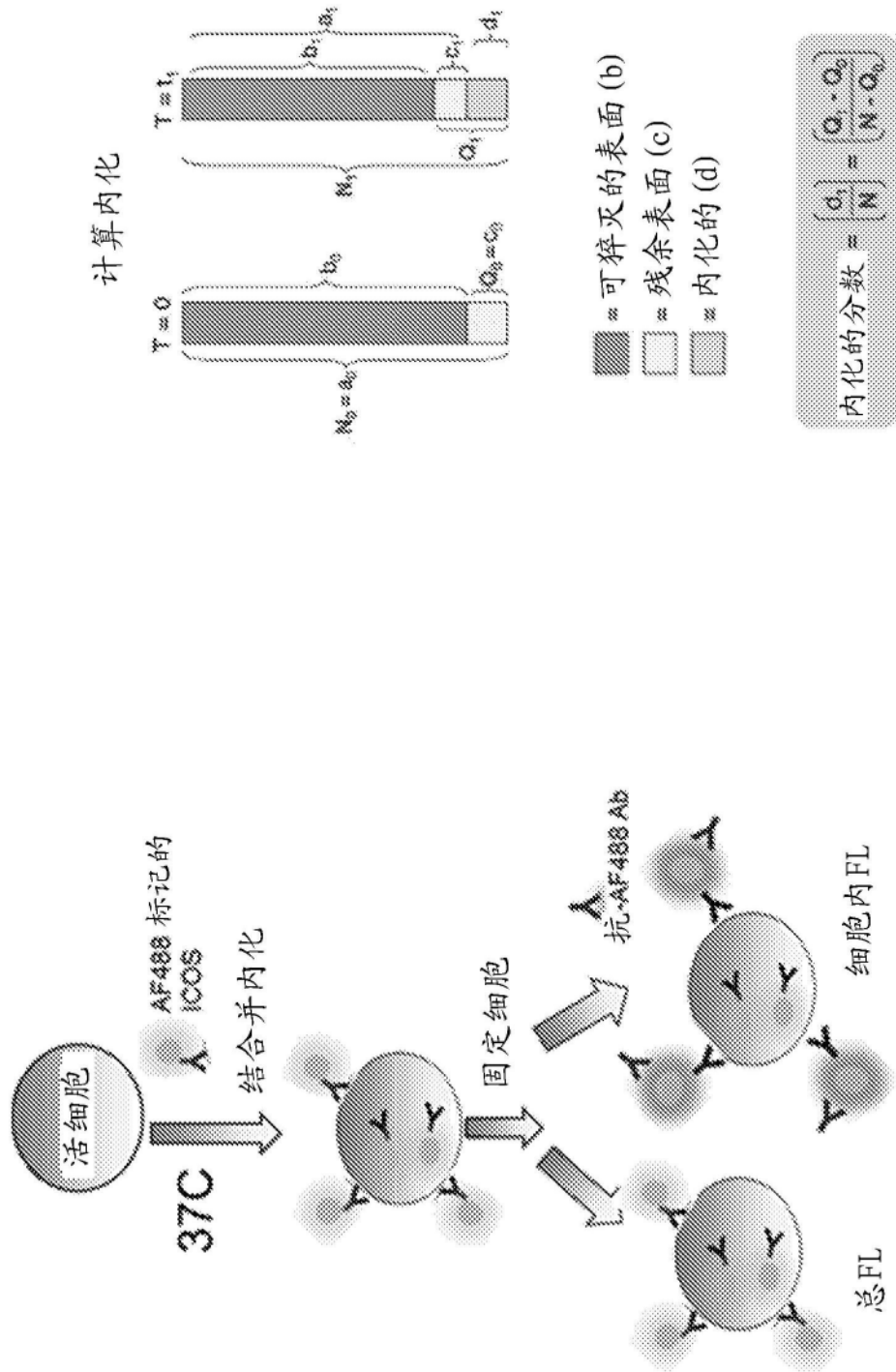


图37

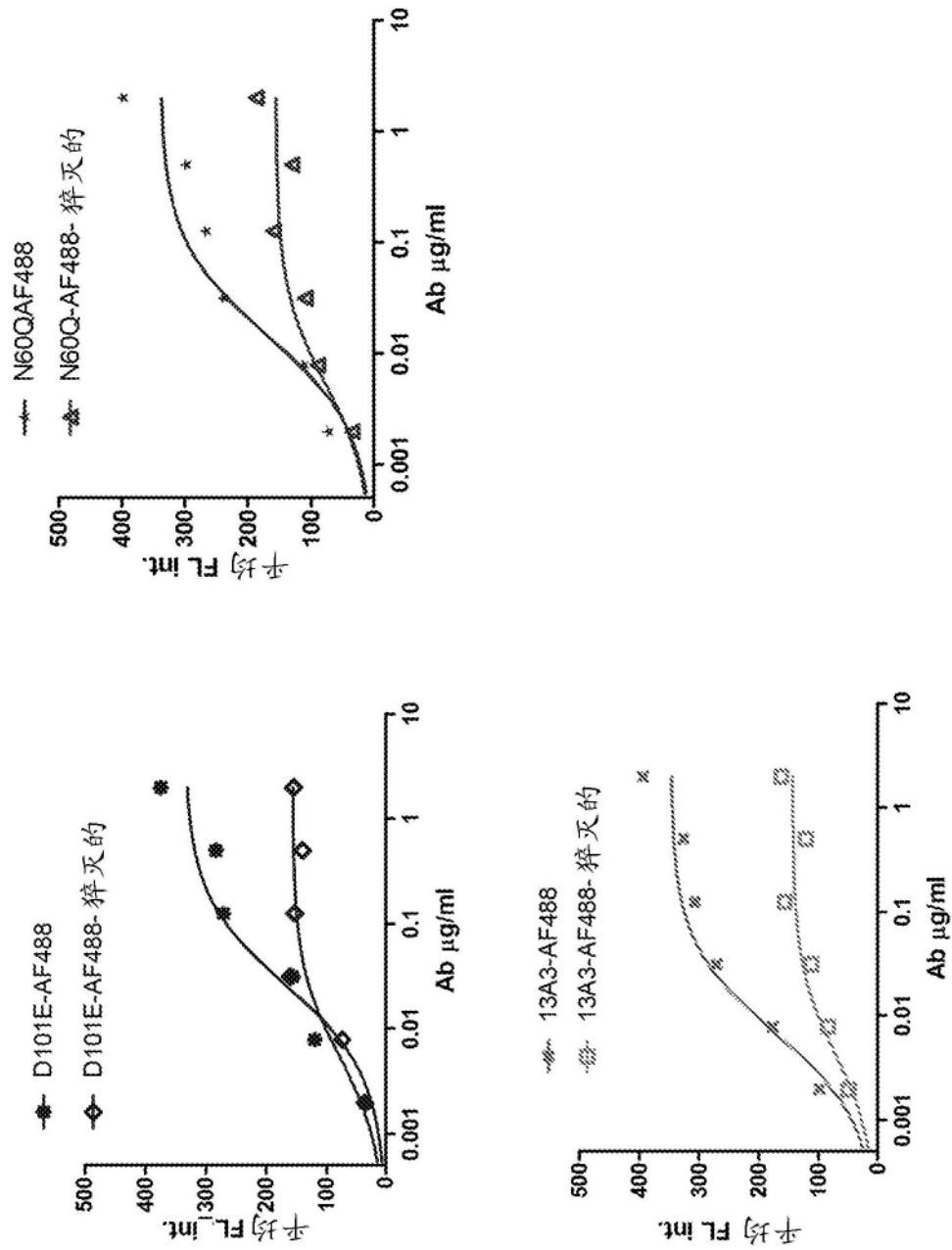


图38



图39A

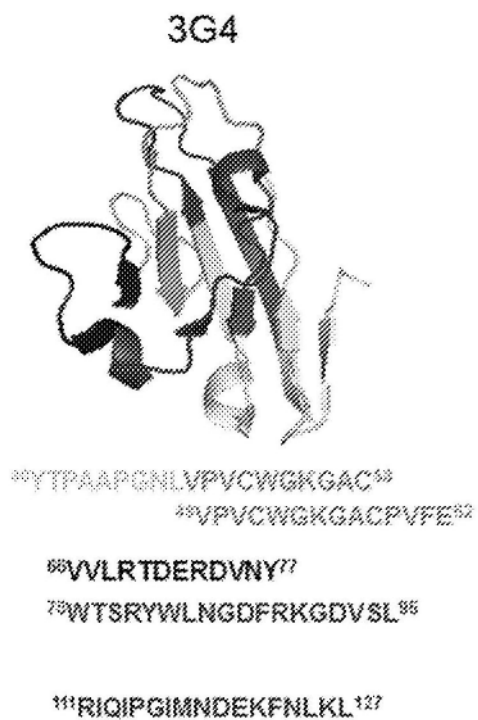


图39B