



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I784976 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：106135145

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 10 月 13 日

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

C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

C12N15/13 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2016/10/13 美國

62/407,678

(71)申請人：大陸商正大天晴藥業集團股份有限公司 (中國大陸) CHIA TAI TIANQING
PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72)發明人：葛蘭達爾 麥可 蒙拉德 GRANDAL, MICHAEL MONRAD (DK)；巴蒂亞 維克
拉姆 克喬樂 BHATIA, VIKRAM KJOELLER (DK)；葛傑廷 托本 GJETTING,
TORBEN (DK)；佛利克 卡米拉 FROHLICH, CAMILLA (DK)；科理兒 古特
羅蘭 GALLER, GUNTHER ROLAND (DE)；葛雷 麥可 KRAGH, MICHAEL
(DK)；胡拉克 艾芬 大衛 HORAK, IVAN DAVID (US)；布昆恩 湯姆士
BOUQUIN, THOMAS (FR)；彼得森 米克 汪達爾 PEDERSEN, MIKKEL
WANDAHL (DK)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：

TW 201406784A

WO 2010/019570A2

審查人員：吳思嫻

申請專利範圍項數：15 項 圖式數：9 共 161 頁

(54)名稱

抗LAG-3抗體及組成物

(57)摘要

此發明係關於抗LAG-3抗體和使用其以治療受益於調控LAG-3活性之疾病和病狀(如癌症)的方法。

This invention relates to anti-LAG-3 antibodies and methods of using them in treating diseases and conditions that benefit from modulating LAG-3 activity, e.g., cancer.

指定代表圖：

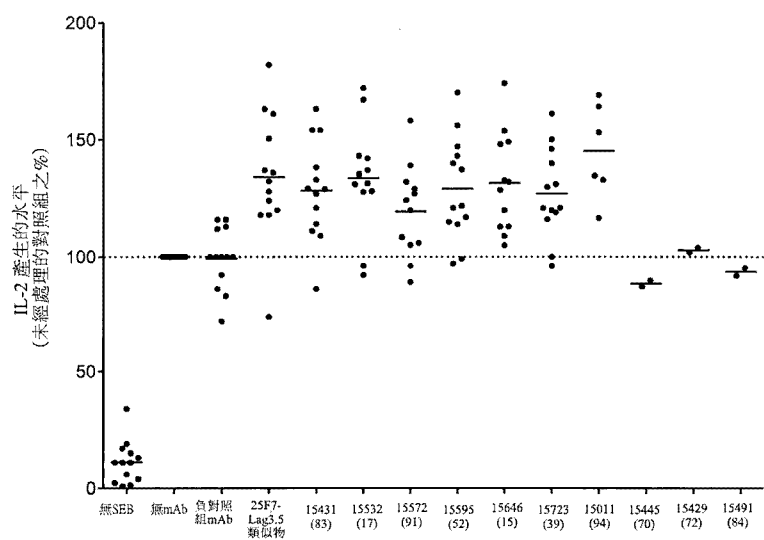


圖3

I784976

【發明摘要】**【中文發明名稱】** 抗LAG-3抗體及組成物**【英文發明名稱】** ANTI-LAG-3 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS**【中文】**

此發明係關於抗LAG-3抗體和使用其以治療受益於調控LAG-3活性之疾病和病狀（如癌症）的方法。

【英文】

This invention relates to anti-LAG-3 antibodies and methods of using them in treating diseases and conditions that benefit from modulating LAG-3 activity, e.g., cancer.

【指定代表圖】 圖3**【代表圖之符號簡單說明】**

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗LAG-3 抗體及組成物

【英文發明名稱】 ANTI-LAG-3 ANTIBODIES AND COMPOSITIONS

序列表

【0001】 本案含有以ASCII格式電子呈送並以其整體為參照的方式併入本文中之序列表。該序列表（創於2017年10月5日）之電子複本被命名為022675_WO057_SL.txt且有64,693位元的大小。

【技術領域】

【0002】 此發明係關於抗LAG-3抗體和使用其以治療疾病和病狀的方法。

【先前技術】

【0003】 LAG-3（淋巴細胞-活化基因3）（也稱為CD223）係免疫球蛋白超家族蛋白質，其作為免疫查核點受體。成熟蛋白質為具有四個細胞外類Ig域（Ig-like domain）之503個胺基酸的第I型跨膜蛋白。其在各種類型的細胞上表現，包括活化的T細胞、T調控（Treg）細胞、自然殺手細胞、B細胞和漿細胞樣（plasmacytoid）樹突細胞。關於序列資料、外顯子/內含子架構和LAG-3的染色體定位之資訊指出，其與CD4密切相關。與CD4相似，LAG-3結合第II型MHC分子，儘管相較於CD4有更高的親和力且在不同的位點上。

【0004】 LAG-3為共抑制受體，其被認為以類似於CTLA-4和PD-1的方式調節T細胞增殖、活化和動態平衡。當配體結合至細胞外域時，LAG-3透過隨後的經細胞質域之傳信來發揮其作用。LAG-3之最佳的定性配體為第II型MHC

(MHCII)，而其他LAG-3配體已被描述，包括LSECtin。

【0005】 LAG-3沒有典型的ITIM或ITSM模體，但有被認為對於完成T細胞活性之抑制功效是必要的之保守性KIEELE模體（SEQ ID NO: 73）。對於LAG-3影響T細胞活性之確切機制的瞭解甚少。LAG-3藉由阻斷活化的T細胞進入細胞週期的生長期來抑制T細胞擴增，造成S期（S-phase）中的細胞聚積。LAG-3亦被認為有加強調控性T細胞的抑制活性以及調控樹突細胞功能之作用。癌細胞能夠上調會與效應T細胞上的LAG-3結合之MHCII的表現，而因此抑制其活性並誘導腫瘤免疫逃逸（immune escape）。

【0006】 鑑於LAG-3作為免疫調節者的關鍵角色，需要靶向LAG-3以治療癌症和某些免疫系統的病症之新的且改良的免疫療法。

【發明內容】

【0007】 本發明係關於靶向LAG-3之新穎的重組抗體，以及包含一或多種此等抗體之醫藥組成物，以及該抗體和醫藥組成物用於增加患者免疫力和用於癌症治療的用途，該癌症係源自於諸如以下的組織：皮膚、肺、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎、軟組織、造血系統、頭和頸、肝、膀胱、乳房、胃、子宮和胰臟。相較於目前對於該等癌症之可用的治療（包括抗體治療），預期本發明之抗體單獨或與另一種癌症治療劑（諸如靶向另一免疫查核點蛋白質之抗體）組合可提供優異的臨床反應。

【0008】 在一具體實例中，本發明提供抗LAG-3抗體或其抗原結合部分，其中該抗LAG-3抗體為在此所指的抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之任一抗體或其變異體，其中該變異體可為（例如）不同的同型或同型亞型（subclass）及/或含有某些相對於抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之最小胺基酸改變而沒有喪失親本抗體

(parent antibody) 的抗原結合特異性。

【0009】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體與具有以下重鏈（H）CDR1-3和輕鏈（L）CDR1-3之抗體競爭結合至人類LAG-3：與抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR1-3和L-CDR1-3相同或源自於抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR1-3和L-CDR1-3。

【0010】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體與具有以下重鏈（H）CDR1-3和輕鏈（L）CDR1-3之抗體結合至相同的人類LAG-3之表位：與抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR1-3和L-CDR1-3相同或源自於抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR1-3和L-CDR1-3。

【0011】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含H-CDR3，該H-CDR3包含抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR3胺基酸序列。

【0012】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含H-CDR1-3，該H-CDR1-3分別包含抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR1-3序列。

【0013】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含L-CDR3，該L-CDR3包含抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之L-CDR3胺基酸序列。

【0014】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含L-CDR1-3，該L-CDR1-3分別包含抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之L-CDR1-3序列。

【0015】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含抗體15646、15532、

15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR3和L-CDR3胺基酸序列。

【0016】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR1-3和L-CDR1-3胺基酸序列。

【0017】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體與抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011競爭結合至人類LAG-3。

【0018】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體與抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011結合至相同的人類LAG-3之表位。

【0019】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含包含SEQ ID NO: 37、43、46、50、55、58或64之胺基酸序列的重鏈互補性決定區（H-CDR）3。

【0020】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含H-CDR1-3，該H-CDR1-3分別包含SEQ ID NO: 35-37；41-43；35、42和46；48-50；53-55；56-58；或62-64之胺基酸序列。

【0021】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有重鏈可變域（VH），該重鏈可變域與SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、23或27的VH胺基酸序列至少90%（例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%）序列一致。

【0022】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有包含SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、23或27的VH。

【0023】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有重鏈（HC），該重鏈包含SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、23或27的VH胺基酸序列和SEQ ID NO: 30之重鏈恆定區胺基酸序列。

【0024】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含包含SEQ ID NO: 40、52、61或67之胺基酸序列的輕鏈互補性決定區（L-CDR）3。

【0025】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含L-CDR1-3，該L-CDR1-3分別包含SEQ ID NO: 38-40；44、45和40；44、47和40；51、47和52；59-61；

或65-67之胺基酸序列。

【0026】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有輕鏈可變域（VL），該輕鏈可變域與SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24或28的VL胺基酸序列有至少90%（例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%）序列一致。

【0027】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有包含SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24或28的VL。

【0028】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有輕鏈（LC），該輕鏈包含SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24或28的VL胺基酸序列和SEQ ID NO: 32或34之輕鏈恆定區胺基酸序列。

【0029】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含H-CDR3和L-CDR3，該H-CDR3和L-CDR3分別為SEQ ID NO: 37和40；43和40；46和40；50和52；55和40；58和61；或64和67之胺基酸序列。

【0030】 在某些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分包含以下H-CDR1-3和L-CDR1-3胺基酸序列：

- a) 分別為SEQ ID NO: 35、36、37、38、39和40；
- b) 分別為SEQ ID NO: 41、42、43、44、45和40；
- c) 分別為SEQ ID NO: 35、42、46、44、47和40；
- d) 分別為SEQ ID NO: 48、49、50、51、47和52；
- e) 分別為SEQ ID NO: 53、54、55、44、45和40；
- f) 分別為SEQ ID NO: 56、57、58、59、60和61；或
- g) 分別為SEQ ID NO: 62、63、64、65、66和67。

【0031】 在某些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分：

- a) 具有與SEQ ID NO: 3之胺基酸序列至少90%（例如，至少92%、至少

- 95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VH，以及與SEQ ID NO: 4之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VL；
- b) 具有與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VH，以及與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VL；
- c) 具有與SEQ ID NO: 11之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VH，以及與SEQ ID NO: 12之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VL；
- d) 具有與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VH，以及與SEQ ID NO: 16之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VL；
- e) 具有與SEQ ID NO: 19之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VH，以及與SEQ ID NO: 20之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VL；
- f) 具有與SEQ ID NO: 23之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VH，以及與SEQ ID NO: 24之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VL；或
- g) 具有與SEQ ID NO: 27之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少

95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VH，以及與SEQ ID NO: 28之胺基酸序列至少90% (例如，至少92%、至少95%、至少98%或至少99%) 序列一致的VL。

【0032】 在某些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分：

- a) 具有包含SEQ ID NO: 3之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 3之胺基酸序列組成的VH，以及包含SEQ ID NO: 4之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 4之胺基酸序列組成的VL；
- b) 具有包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 7之胺基酸序列組成的VH，以及包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 8之胺基酸序列組成的VL；
- c) 具有包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 11之胺基酸序列組成的VH，以及包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 12之胺基酸序列組成的VL；
- d) 具有包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 15之胺基酸序列組成的VH，以及包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 16之胺基酸序列組成的VL；
- e) 具有包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 19之胺基酸序列組成的VH，以及包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 20之胺基酸序列組成的VL；
- f) 具有包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 23之胺基酸序列組成的VH，以及包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 24之胺基酸序列組成的VL；或
- g) 具有包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 27之胺基酸序列組成的VH，以及包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列或由SEQ ID NO:

28之胺基酸序列組成的VL。

【0033】 在某些具體實例中，該抗LAG-3抗體：

- a) 具有包含SEQ ID NO: 4和34之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 4和34之胺基酸序列組成的LC，以及包含SEQ ID NO: 3和30之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 3和30之胺基酸序列組成的HC；
- b) 具有包含SEQ ID NO: 8和34之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 8和34之胺基酸序列組成的LC，以及包含SEQ ID NO: 7和30之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 7和30之胺基酸序列組成的HC；
- c) 具有包含SEQ ID NO: 12和34之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 12和34之胺基酸序列組成的LC，以及包含SEQ ID NO: 11和30之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 11和30之胺基酸序列組成的HC；
- d) 具有包含SEQ ID NO: 16和34之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 16和34之胺基酸序列組成的LC，以及包含SEQ ID NO: 15和30之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 15和30之胺基酸序列組成的HC；
- e) 具有包含SEQ ID NO: 20和34之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 20和34之胺基酸序列組成的LC，以及包含SEQ ID NO: 19和30之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 19和30之胺基酸序列組成的HC；
- f) 具有包含SEQ ID NO: 24和34之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 24和34之胺基酸序列組成的LC，以及包含SEQ ID NO: 23和30之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 23和30之胺基酸序列組成的HC；或
- g) 具有包含SEQ ID NO: 28和32之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 28和32之胺基酸序列組成的LC，以及包含SEQ ID NO: 27和30之胺基酸序列或由SEQ ID NO: 27和30之胺基酸序列組成的HC。

【0034】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分具

有至少一種以下特性：

- a) 以流式細胞術競爭分析來測定，在20 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度，相較於負對照組抗體，減少大於85%之人類LAG-3對於A375細胞上的人類第II型MHC的結合；
- b) 以流式細胞術競爭分析來測定，在20 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度，相較於負對照組抗體，減少人類LAG-3對於A375細胞上的人類第II型MHC的結合至35%和85%之間；
- c) 阻斷在Jurkat細胞上表現的人類LAG-3與在Raji細胞上表現的人類第II型MHC之間的結合；
- d) 以流式細胞測量術來測量，結合至人類LAG-3，之 EC_{50} 為0.1 nM或更少；
- e) 以流式細胞測量術來測量，結合至食蟹獼猴LAG-3之 EC_{50} 為0.3 nM或更少；
- f) 以表面電漿共振來測量，結合至人類LAG-3之 K_D 為 3.0×10^{-8} 或更少；
- g) 以表面電漿共振來測量，結合至食蟹獼猴LAG-3之 K_D 為 1.5×10^{-7} 或更少；
- h) 以表面電漿共振來測量，結合至小鼠LAG-3之 K_D 為 3.5×10^{-8} 或更少；
- i) 刺激經葡萄球菌 (*Staphylococcal*) 腸毒素B (SEB) 處理之人類周圍血液單核細胞 (PBMC) 中的IL-2產生；
- j) 減少人類T細胞中的LAG-3之細胞水平；
- k) 減少人類T細胞之培養物中的LAG-3之可溶性水平；
- l) 誘導活體內腫瘤生長退化；
- m) 延緩活體內腫瘤生長；以及
- n) 不會與抗體25F7-Lag3.5結合至相同的人類LAG-3之表位。

【0035】 該抗體之實例包括（不限於）抗體15646（至少具有特性b、c、d、e、i和n）、抗體15532（至少具有特性a、c、d、e、f、g、i、j、k、m和n）、抗體15723（至少具有特性b、c、d、e、i和n）、抗體15595（至少具有特性a、c、d、e、i和n）、抗體15431（至少具有特性a、c、d、e、f、g、i和n）、抗體15572（至少具有特性b、c、d、e、f、g、i和n）和抗體15011（至少具有特性a、c、d、e、f、g、h、i、j、k、l、m和n）。在一些具體實例中，本發明之抗TIM-3抗體或抗原結合部分具有至少13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1種所述特性。在一些具體實例中，本發明之抗TIM-3抗體或抗原結合部分具有：至少特性b、c、d、e、i和n；至少特性a、c、d、e、f、g、i、j、k、m和n；至少特性a、c、d、e、i和n；至少特性a、c、d、e、f、g、i和n；至少特性b、c、d、e、f、g、i和n；或至少特性a、c、d、e、f、g、h、i、j、k、l、m和n。

【0036】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分與抗體15011、15572及/或15431競爭結合至人類LAG-3。

【0037】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分結合至人類LAG-3的表位，該人類LAG-3的表位具有：

- a) SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基H85、P86、A87、P89、S91、W92和G93；
- b) SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基A40、Q41、P43、P46、P49、D52、T62、Q64、H65、Q66、P67、D68、G93、P94、P96、R98、Y99、T100、V101、P106、G107、R119、E124、R129、G130、D131、S133、R137、P138、D143、R148和R163；
- c) SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基A40、Q41、P43、P46、P49、D52、T62、Q64、H65、Q66、P67、D68、P96、Y99、T100、V101、

P106、G107、R119、E124、R129、G130、D131、S133、R137、
P138、D143、R148和R163；或

d) SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基G107、L109、R110和S111。

【0038】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分結合至具有SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基98-105的表位。該抗體的實例包括（不限於）抗體 15532、15431、15572和15011。

【0039】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分結合至表位，該表位具有：

a) SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基78-105和123-131；

b) SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基23-30、40-66、88-105、123-137和148-152；或

c) SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基23-30、40-66、98-105、118-137和148-161。

【0040】 在一些具體實例中，本發明之抗體為IgG同型，例如IgG同型之亞型IgG₁或IgG₂。在某些具體實例中，該抗體包含至少一種Fc區域中的突變。在特定具體實例中，該抗體包含重鏈胺基酸位置228、234和235之一或多者中的突變，該等位置係根據IMGT®編號方法（IMGT® numbering scheme）來編號。例如，在位置234和235的胺基酸殘基之一者或兩者從Leu突變為Ala及/或在位置228的胺基酸殘基從Ser突變為Pro。

【0041】 在另一態樣中，本發明提供包含至少一種（例如，一種）本文所述的抗LAG-3抗體或其抗原結合部分以及醫藥上可接受的賦形劑之醫藥組成物，視需要地有其他治療劑，諸如抗癌抗體治療劑。

【0042】 本發明進一步提供經分離的核酸分子，其包含編碼本文所述的抗LAG-3抗體的重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列、編碼本文所述的抗LAG-

3抗體的輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列或兩者。本發明亦提供包含該經分離的核酸分子之載體，其中所述載體可進一步包含表現控制序列。

【0043】 本發明亦提供宿主細胞，其包含編碼本文所述的抗LAG-3抗體的重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列、或編碼本文所述的抗LAG-3抗體的輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列或兩者。

【0044】 本發明亦提供製造本文所述的抗體或其抗原結合部分之方法，該方法包含提供包含編碼本文所述的抗LAG-3抗體的重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列以及編碼本文所述的抗LAG-3抗體的輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列的宿主細胞，在適合表現該抗體或部分的條件下培養所述宿主細胞，以及分離所產生的抗體或部分。

【0045】 本發明亦提供多特異性（如雙特異性）結合分子，其包含本文所述的抗LAG-3抗體之抗原結合部分以及另一不同的抗體（諸如另一抗LAG-3抗體（如本文所述的）或靶向不同蛋白質（如另一免疫查核點蛋白質、癌症抗原或其活性可介導諸如癌症之疾病狀況的另一細胞表面分子）的抗體）之抗原結合部分。

【0046】 本發明亦提供治療LAG-3相關病症的患者之方法，包含將本文所述的抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、醫藥組成物或雙特異性結合分子投予至所述患者。除非另有指明，本文中的患者係指人類患者。

【0047】 本發明亦提供增加患者免疫力之方法，包含將本文所述的抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、醫藥組成物或雙特異性結合分子投予至所述患者。

【0048】 本發明進一步提供治療患者之癌症的方法，包含將本文所述的抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、醫藥組成物或雙特異性結合分子投予至所述患者。在一些具體實例中，該癌症係源自選自以下的組織中：皮膚、肺、腸、

結腸、卵巢、腦、前列腺、腎、軟組織、造血系統、頭和頸、肝、膀胱、乳房、胃、子宮和胰臟。在某些具體實例中，該癌症為纖維肉瘤、非小細胞肺癌、黑色素瘤、神經膠質母細胞瘤、神經膠肉瘤或結腸直腸癌。

【0049】 上述方法之任一者可進一步包含施用（例如）化學治療劑、抗腫瘤劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、LAG-3途徑抑制劑或輻射療法。在一些具體實例中，該方法進一步包含投予視網酸、苯基丁酸鹽、全反式視網酸及/或活化型維生素D。

【0050】 本發明進一步提供包含本文所述的抗LAG-3抗體或抗原結合部分的抗體組成物之用途，其係用於製造用於治療LAG-3相關病症的患者、治療患者之癌症及/或增強有需要之患者的免疫力的醫藥品。

【0051】 本發明進一步提供用於治療LAG-3相關病症的患者、治療患者之癌症及/或增強有需要之患者的免疫力之本文所述的抗LAG-3抗體或抗原結合部分。

【0052】 本發明進一步提供包含本文所述的抗LAG-3抗體或抗原結合部分之製品，其中所述製品適合用於治療LAG-3相關病症的患者、治療患者之癌症及/或增強有需要之患者的免疫力。

【圖式簡單說明】

【0053】 圖1A-1C顯示如實施例2所述產生的抗體之代表性的流式細胞測量術點陣圖。圖1A：與人類LAG-3轉染的細胞特異性結合之抗體殖株。圖1B：與CHO-S細胞非特異性結合之抗體殖株。圖1C：不與用於篩選中的任何細胞群結合之抗體殖株。

【0054】 圖2顯示在以抗LAG-3單株抗體處理之後，從經SEB刺激的PBMC之IL-2產生的水平。

【0055】 圖3顯示在以抗LAG-3單株抗體處理之後，從經SEB刺激的PBMC之IL-2產生的水平。每個點代表來自單一PBMC供體的IL-2分泌水平。

【0056】 圖4顯示在以抗LAG-3單株抗體處理之後，第II類LAG-3-MHC阻斷分析中的發光水平。數據以平均值±SEM表示。

【0057】 圖5顯示以抗LAG-3單株抗體處理之後，來自LAG-3轉染的T細胞系的溶胞產物和上清液中之LAG-3的水平。數據以平均值±SEM表示。星號表示15532和參考抗體類似物之間的統計學上顯著的差異（*：p<0.05，***：p<0.001，****：p<0.0001）。

【0058】 圖6證實抗體15011在兩個同系鼠類腫瘤模型中的活體內功效。

【0059】 圖7證實抗體15532在半人類化異種移植腫瘤模型中的活體內功效，其中以人類PBMC重建NOG小鼠之免疫系統，且以將人類黑色素瘤A375細胞移植至該小鼠。

【0060】 圖8顯示一組13種抗LAG-3抗體的結合競爭分析所鑑定出的表位群（表位倉（epitope bin））的概述。由黑線連接的抗體表示在兩種方向（配體和分析物）上的交叉阻斷活性。由虛線連接的抗體表示單一方向的阻斷，其中該抗體在僅以分析物進行測試時被阻斷。根據與其他抗LAG-3抗體的競爭模式將抗體分群。

【0061】 圖9顯示配體抗體之表位多樣性的群聚分析。在x軸值高於0處具有分支點的抗體具有表位，該等表位可基於對該群組中其他抗體的LAG-3結合之競爭來區分。

【實施方式】

【0062】 本發明提供新的抗人類LAG-3抗體，其用於增強諸如癌症患者的人類患者之免疫系統。除非另外指明，在此所用的「LAG-3」係指人類LAG-

3。人類LAG-3多肽序列可從UniProt Accession No. P18627 (LAG3_HUMAN) (SEQ ID NO: 68) 獲得。

【0063】 在此所用的用語「抗體」(Ab)或「免疫球蛋白」(Ig)係指包含以雙硫鍵互相連接之兩個重(H)鏈(約50-70 kDa)和兩個輕(L)鏈(約25 kDa)的四聚體。每個重鏈可由重鏈可變域(VH)和重鏈恆定區(CH)組成。每個輕鏈由輕鏈可變域(VL)和輕鏈恆定區(CL)組成。VH和VL結構域可進一步細分為稱作「互補性決定區(CDR)」的高度變異區，散佈有更保守的區域，稱為「架構區」(FR)。每個VH和VL由三個CDR(在此的H-CDR指重鏈中的CDR；在此的L-CDR指輕鏈中的CDR)和四個FR組成，依以下從胺基端至羧基端的順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈或輕鏈中之胺基酸編號分配可根據IMGT[®]定義(Lefranc等人，*Dev Comp Immunol* **27** (1):55-77 (2003))；或以下文件的定義：Kabat，*Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health，Bethesda，MD (1987和1991))；Chothia & Lesk，*J. Mol. Biol.* **196**: 901-917 (1987)；或Chothia等人，*Nature* **342**: 878-883 (1989)。

【0064】 用語「重組抗體」係指自包含編碼抗體之核苷酸序列的細胞或細胞系所表現的抗體，其中所述核苷酸序列不與該細胞自然結合。

【0065】 用語「經分離的蛋白質」、「經分離的多肽」或「經分離的抗體」係指由於其來源或衍生源而有以下特徵之蛋白質、多肽或抗體：(1)在其自然態不與其所伴隨之天然結合的組分結合，(2)不含來自同種之其他蛋白質，(3)係由來自不同種的細胞所表現及/或(4)在自然下不會出現。因此，化學合成或在不同於其自然來源之細胞的細胞系統中合成之多肽會是從其天然結合的組分中「分離的」。也可藉由分離(使用技術領域中熟知的蛋白質純化技術)使蛋白質實質上不含天然結合組分。

【0066】 如在此所用的，用語「生殖細胞系（germline）」係指抗體基因和基因片段之核苷酸和胺基酸序列，因為其係透過生殖細胞從親代傳遞至子代。生殖細胞系序列可與成熟B細胞中編碼抗體的核苷酸序列作區分，該核苷酸序列在B細胞成熟的過程中已被重組和超突變事件所改變。「利用」特定生殖細胞系序列之抗體所具有之核苷酸或胺基酸序列與所述生殖細胞系之核苷酸序列或其所限定的胺基酸序列相較於其他生殖細胞系之核苷酸或胺基酸序列更緊密的匹配，其具體指出，所述生殖細胞系核苷酸序列或胺基酸序列比任何其他生殖細胞系之核苷酸或胺基酸序列更接近抗體所具有的核苷酸或胺基酸序列。

【0067】 用語「親和力」係指抗原和抗體之間的吸引之測量。抗體對於抗原之本身的吸引力典型地由特定抗體-抗原相互作用之結合親和力平衡常數（ K_D ）來表示。當 K_D 為 ≤ 1 mM、較佳 ≤ 100 nM時，認為抗體與抗原特異性地結合。 K_D 結合親和力常數可藉由（例如）以下方式測量：表面電漿共振（BIAcore™）或生物膜干涉測量法，例如使用IBIS Technologies 之IBIS MX96 SPR系統或ForteBio之Octet™系統。

【0068】 用語「 k_{off} 」係指特定抗體-抗原相互作用之解離速率常數。 k_{off} 解離速率常數可藉由（例如）以下方式測量：SPR（表面電漿共振），例如使用IBIS MX96系統。

【0069】 在此所用的用語「表位」係指特異性地結合至抗體或相關分子（諸如雙特異性結合分子）之抗原的部分（決定區）。表位的決定區一般由分子之具化學活性的表面基團（諸如胺基酸或碳水化合物或糖側鏈）組成且一般具有特定三維結構特性，以及特定的電荷特性。表位可為「線性的」或「構形的」。在線性表位中，蛋白質（例如，抗原）和相互作用分子（諸如抗體）之間的所有相互作用點在於線性地沿著該蛋白質之一級胺基酸序列。在構形的表

位中，相互作用點係遍佈於從一級胺基酸序列彼此分離之蛋白質上的胺基酸殘基。一旦確定抗原上所需的表位，使用技術領域中熟知的技術來產生針對該表位的抗體是可能的。針對線性表位之抗體可藉由（例如）以下方式來產生：用具有該線性表位之胺基酸殘基的胜肽使動物產生免疫。針對構形表位的抗體可藉由（例如）以下方式來產生：用含有該構形表位之相關的胺基酸殘基之小域（mini-domain）使動物產生免疫。針對特定表位之抗體也可由（例如）以下方式來產生：用所關注的靶向分子（例如，LAG-3）或其相關部分使動物產生免疫，然後對該表位的結合進行篩選。

【0070】 藉由使用技術領域中已知的方法，包括（不限於）競爭分析、表位分組（epitope binning）和丙胺酸掃描法，可確定是否抗體如同本發明之抗LAG-3抗體結合至相同表位或與本發明之抗LAG-3抗體競爭結合。在一具體實例中，可在飽和條件下使本發明之抗LAG-3抗體結合至LAG-3，且隨後測量測試抗體結合至LAG-3的能力。若測試抗體能夠在如與參照抗LAG-3抗體相同的時間下結合至LAG-3，則該測試抗體結合至與該參照抗LAG-3抗體不同的表位。然而，若測試抗體不能在相同的時間下結合至LAG-3，則該測試抗體結合至與該參照的抗LAG-3抗體相同的表位、重疊的表位、或位於接近與本發明之抗LAG-3抗體結合的表位之處的表位。此實驗可使用（例如）以下方式進行：ELISA、RIA、BIACORE™、SPR、生物膜干涉測量法或流式細胞測量術。為了測試是否抗LAG-3抗體會與另一抗LAG-3抗體交叉競爭，可在兩個方向上使用上述的競爭法，即確定是否已知的抗體會阻斷測試抗體，反之亦然。該等交叉競爭實驗可（例如）使用IBIS MX96 SPR儀器或Octet™系統來進行。

【0071】 如本發明之抗體結合至相同表位的抗體或與本發明之抗體競爭結合的抗體較佳具有MHCII阻斷活性，例如使用實施例6所述的流式細胞術競爭分析來測定。如本發明之抗體結合至相同表位的抗體或與本發明之抗體競爭

結合的抗體可減少結合至少（例如）35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%，或較佳至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。

【0072】 用語「嵌合抗體」在其最廣義上係指含有來自一種抗體之一或多個區域和來自一或多種其他抗體之一或多個區域的抗體，典型地為部分人類來源和部分非人類來源（即，部分源自非人類動物，例如小鼠、大鼠或其他齧齒動物，或諸如雞之鳥禽）的抗體。為了減少人類抗抗體反應的風險，例如對於鼠類抗體之人類抗小鼠抗體反應，嵌合抗體相較於非人類抗體是較佳的。典型的嵌合抗體之實例為其中可變域序列為鼠類的而恆定區序列為人類的之抗體。關於嵌合抗體，可對其非人類的部分作進一步的改變以使該抗體人類化。在此所述的嵌合抗體可具有（例如）雞的可變域序列和人類的恆定區序列。

【0073】 用語「人類化」係指以下事實：對於完全地或部分地非人類來源之抗體（例如，從以所關注之抗原分別進行的小鼠或雞之免疫作用中獲得之鼠類或雞的抗體，或基於該鼠類或雞之抗體的嵌合抗體），可能置換某些胺基酸（特別是在重和輕鏈之架構區和恆定區中），以避免人類中的免疫反應或將人類中的免疫反應減至最小。雖然不可能精確地預測特定抗體之免疫原性並藉此預測人類抗抗體反應，非人類抗體在人類中有相較於人類抗體更具免疫性的趨勢。已顯示，其中外來的（如，齧齒動物或鳥禽）恆定區已被置換為人類來源之序列的嵌合抗體，一般相較於完全為外來來源的抗體有較少的免疫性，且治療抗體中的趨勢傾向於人類化或完全人類抗體。因此，嵌合抗體或其他非人類來源之抗體可經人類化以減少人類抗抗體反應的風險。

【0074】 對於嵌合抗體，人類化典型地涉及可變域序列的架構區之修飾。為互補性決定區（CDR）的部分之胺基酸殘基極少有關於人類化作用的改變，雖然在某些情況下，可能會想要改變各別的CDR胺基酸殘基，例如移除糖

化作用位置、脫醯胺作用位置、天門冬胺酸異構化作用位置或不想要的半胱胺酸或甲硫胺酸殘基。藉由寡醣鏈附接至三肽序列Asn-X-Ser或Asn-X-Thr中的天冬醯胺殘基產生N連接的糖化作用，其中X可為除了Pro之外的胺基酸。藉由將Asn或Ser/Thr突變為不同的殘基，較佳地藉由保守性取代的方式，以達成移除N糖化作用的位置。天冬醯胺和麩醯胺酸殘基之脫醯胺作用將視諸如pH和表面暴露的因素而進行。天冬醯胺殘基特別容易進行脫醯胺作用，主要是當存在於序列Asn-Gly中時進行，而在其他諸如Asn-Ala之二肽序列中時，脫醯胺作用程度較低。因此當在CDR序列中存在該脫醯胺作用位置（特別是Asn-Gly）時，會想要移除該位置，典型地藉由保守性取代來移除一個相關的殘基。

【0075】 技術領域中已知許多用於抗體序列之人類化的方法；請參見（例如）Almagro & Fransson之回顧文獻，*Front Biosci.* **13**:1619-1633（2008）。最常普遍使用的方法為CDR移植，其用於（例如）源自鼠類的嵌合抗體，包含鑑定鼠類可變域基因之人類生殖細胞系基因對應物以及移植鼠類CDR序列至此架構中。抗體與靶向抗原的相互作用之特異性主要在於位於重和輕鏈之六個CDR的胺基酸殘基。因此，相較於在CDR外的序列，在CDR內的胺基酸序列於各別抗體之間的有較多的可變性。因為CDR序列負責大多數抗體-抗原之相互作用，故可以表現模擬特定天然存在抗體之特性的重組抗體，或更概括地為具有給定的胺基酸序列之任何特定抗體，例如藉由從移植到來自不同抗體的架構序列之特定抗體來建構表現CDR序列之表現載體。因此，將非人類抗體「人類化」並仍實質上維持原抗體的結合特異性和親和力是可能的。CDR移植可基於Kabat的CDR定義，雖然較近期的刊物（Magdelaine-Beuzelin等人，*Crit Rev.Oncol Hematol.* **64**:210-225（2007））已暗示IMGT[®]定義（the international ImMunoGeneTics information system[®], www.imgt.org）可改善人類化的結果（參見：Lefranc等人，*Dev. Comp Immunol.* **27**:55-77（2003））。

【0076】 在一些情況下，相較於獲得CDR移植抗體之親代抗體，CDR移植可降低CDR移植抗體的結合特異性及親和力並因此降低其生物學活性。可引入回復突變（有時稱為「架構修復（framework repair）」）於CDR移植抗體之所選定位置（典型地在架構區），以重建親代抗體之結合特異性及親和力。可能的回復突變之位置可使用文獻和抗體資料庫中可得的資訊來鑑定。作為回復突變之候選者的胺基酸殘基典型地為位於抗體分子的表面之胺基酸殘基，而嵌入的或有低程度表面暴露的殘基通常不會被改變。對於CDR移植和回復突變之替代性人類化技術為表面重組（resurfacing），其中保留非人類來源的非表面暴露殘基，而將表面殘基改變為人類殘基。

【0077】 在某些情況下，也可能會想要改變一或多個CDR胺基酸殘基，以為了改善對於靶向表位的結合親和力。此係已知為「親和力成熟」且視需要可與人類化一起進行，例如在抗體之人類化導致結合特異性或親和力降低且無法僅藉由回復突變來改善結合特異性或親和力的情況下。各種親和力成熟作用之方法是技術領域中已知的，例如Burks等人所述的試管內掃描飽和突變誘導方法（*in vitro* scanning saturation mutagenesis method）（*Proc Natl Acad Sci USA*, **94**:412-417(1997)）以及Wu等人之逐步試管內親和力成熟方法（*Proc Natl Acad Sci USA*, **95**:6037-6042(1998)）。

【0078】 用語抗體之「抗原結合部分」（或簡稱「抗體部分」），如在此所用的，係指保有特異性地結合至抗原（例如，人類LAG-3或其部分）的能力之抗體的一或多個部分或片段。已顯示，全長抗體之某些片段表現該抗體之結合抗原的功能。用語「抗原結合部分」所包含的結合片段之實例包括（i）Fab片段：由V_L、V_H、C_L和C_{H1}域所組成之單價片段；（ii）F(ab')₂片段：包含以在鉸鏈區的雙硫橋連接的兩個Fab片段之雙價片段；（iii）由V_H and C_{H1}域組成之Fd片段；（iv）由抗體之單臂的V_L和V_H域組成之Fv片段，（v）由V_H域組

成之dAb片段；以及(vi)能夠特異性地結合至抗原之經分離的互補性決定區(CDR)。再者，雖然Fv片段、V_L和V_H之兩個域係由分開的基因編碼，但是可使用重組方法使它們連結，藉由合成的連接子(linker)使其成為單一蛋白質鏈，其中V_L和V_H域配對以形成單價分子(稱為單鏈Fv(scFv))。包含V_H及/或V_L的抗原結合分子也在本發明之中。就V_H而言，該分子也可包含CH1、鉸鏈、CH2或CH3區中的一或多者。抗體的「抗原結合部分」之用語也有意將該單鏈抗體包括在內。諸如雙抗體(diabodies)之其他形式的單鏈抗體也包括在內。雙抗體為二價的、雙特異性的抗體，其中V_H和V_L域係在單一多肽鏈上表現，但使用過短而無法將相同鏈上的兩個域配對之連接子，從而被迫使該等域與另一條鏈的互補域配對並產生兩個抗原結合位點。

【0079】 諸如Fab和F(ab')₂片段之抗體部分，可從完整的抗體使用常規技術(諸如完整抗體之木瓜蛋白酶或胃蛋白酶消化)來製備。此外，抗體、抗體部分和免疫黏附分子(immunoadhesion molecule)可使用(例如)本文所述的標準重組DNA技術來獲得。

【0080】 抗LAG-3抗體之類型(同型)和亞型可由技術領域中已知的任何方法來確定。一般而言，抗體的類型和亞型可使用對特定類型和亞型的抗體具有特異性的抗體來確定。該等抗體係市售可得的。可藉由ELISA、西方點墨法以及其他技術來確定其類型和亞型。或者，可藉由以下方式來確定其類型和亞型：定序抗體之重鏈及/或輕鏈之恆定區的全部或部分、比較其胺基酸序列與已知的免疫球蛋白之各種類型和亞型之胺基酸序列並確定該抗體之類型和亞型。

【0081】 除非另有指明，此揭示內容中所提及之所有抗體胺基酸殘基編號為依據IMGT[®]編號方法之編號。

抗LAG-3抗體

【0082】 本發明提供針對LAG-3之抗體及其抗原結合部分。在特定具體實例中，本文所揭示的抗體為是由能夠產生具有人類個體遺傳型之抗體的轉基因大鼠產生的人類抗體。在另一具體實例中，抗體為包含雞CDR序列和人類構架區的雞來源之嵌合抗體，其中已使該架構區經人類化。

【0083】 本發明之新穎的抗LAG-3抗體的一優勢為其能夠增強T細胞之活性，藉由增加的IL-2產生所測得；參見（例如）實施例7。雖然不希望被任何特定理論束縛，但咸信本發明之抗LAG-3抗體能夠阻斷LAG-3與其推定的配體（諸如MHCII和LSEctin）之相互作用。該抗體可透過阻斷配體結合區域來直接完成這點，如（例如）實施例6中所證實，或透過誘導LAG-3之內化作用，此被認為是實施例9中呈現的結果背後可能的作用機制。本發明之抗LAG-3抗體的另一潛在優勢為在具有「LALA」突變（L234A/L235A）的抗體中的低水平之二級效應功能（effector function），其阻礙了顯著抗體與人類FcγR（Fcγ受體）的結合，並因此耗竭效應T細胞。

【0084】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有與SEQ ID NO: 37、43、46、50、55、58和64之任一者至少90%序列一致的重鏈CDR3（H-CDR3），例如與SEQ ID NO: 37、43、46、50、55、58和64之任一者至少92%一致，諸如至少95%、96%、至少97%、至少98%或至少99%一致。

【0085】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有與SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、23或27之任一者至少90%序列一致的重鏈可變域（VH），例如與SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、23或27之任一者至少92%一致，諸如至少95%、96%、至少97%、至少98%或至少99%一致。

【0086】 在另一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有與SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、23或27之任一者至少90%序列一致的重鏈可變域（VH），例如與SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、23或27之任一者至少92%一致，諸如至少

95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致；以及與SEQ ID NO: 30至少90%序列一致的重鏈恆定區，例如與SEQ ID NO: 30至少92%一致，諸如至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致。

【0087】 在另一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有重鏈（HC），該重鏈包含SEQ ID NO: 3、7、11、15、19、23或27之任一者的VH胺基酸序列以及SEQ ID NO: 30之重鏈恆定區胺基酸序列。

【0088】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有與SEQ ID NO: 40、52、61和67之任一者至少90%序列一致的輕鏈CDR3（L-CDR3），例如與SEQ ID NO: 40、52、61和67之任一者至少92%一致，諸如至少95%、96%、至少97%、至少98%或至少99%一致。

【0089】 在另一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有與SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24或28之任一者的VL胺基酸序列至少90%序列一致的輕鏈可變域（VL），例如與SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24或28之任一者至少92%一致，諸如至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致。

【0090】 在另一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有與SEQ ID NO: 4、8、12、16、20或24之任一者的VL胺基酸序列至少90%序列一致的輕鏈可變域（VL），例如與SEQ ID NO: 4、8、12、16、20或24之任一者至少92%一致，諸如至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致；以及與SEQ ID NO: 34有至少90%序列一致之輕鏈恆定區胺基酸序列，例如與SEQ ID NO: 34至少92%一致，諸如至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致。

【0091】 在另一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有與SEQ ID NO: 28的VL胺基酸序列至少90%序列一致之輕鏈可變域（VL），例如與SEQ ID NO: 28至少92%一致，諸如至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致；以及與SEQ ID NO: 32至少90%序列一致之輕鏈恆定區胺基酸序列，例如與

SEQ ID NO: 32至少92%一致，諸如至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致。

【0092】 在另一具體實例中，該抗LAG-3抗體具有包含SEQ ID NO: 4、8、12、16、20或24任一者和SEQ ID NO: 34之輕鏈。

【0093】 在另一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含SEQ ID NO: 28和SEQ ID NO: 32之輕鏈。

【0094】 在某些具體實例中，該抗LAG-3抗體包含上述重鏈之任一者和上述輕鏈之任一者。

【0095】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分包含以下H-CDR1-3和L-CDR1-3胺基酸序列：

- a) 分別為SEQ ID NO: 35、36、37、38、39和40；
- b) 分別為SEQ ID NO: 41、42、43、44、45和40；
- c) 分別為SEQ ID NO: 35、42、46、44、47和40；
- d) 分別為SEQ ID NO: 48、49、50、51、47和52；
- e) 分別為SEQ ID NO: 53、54、55、44、45和40；
- f) 分別為SEQ ID NO: 56、57、58、59、60和61；或
- g) 分別為SEQ ID NO: 62、63、64、65、66和67。

【0096】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分包含與以下胺基酸序列有80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之H-CDR3和L-CDR3：

- a) 分別為SEQ ID NO: 37和40；
- b) 分別為SEQ ID NO: 43和40；
- c) 分別為SEQ ID NO: 46和40；
- d) 分別為SEQ ID NO: 50和52；

- e) 分別為SEQ ID NO: 55和40；
- f) 分別為SEQ ID NO: 58和61；或
- g) 分別為SEQ ID NO: 64和67。

【0097】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分包含與以下胺基酸序列有80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的VH和VL：

- a) 分別為SEQ ID NO: 3和4；
- b) 分別為SEQ ID NO: 7和8；
- c) 分別為SEQ ID NO: 11和12；
- d) 分別為SEQ ID NO: 15和16；
- e) 分別為SEQ ID NO: 19和20；
- f) 分別為SEQ ID NO: 23和24；或
- g) 分別為SEQ ID NO: 27和28。

【0098】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分包含具有以下胺基酸序列的VH和VL：

- a) 分別為SEQ ID NO: 3和4；
- b) 分別為SEQ ID NO: 7和8；
- c) 分別為SEQ ID NO: 11和12；
- d) 分別為SEQ ID NO: 15和16；
- e) 分別為SEQ ID NO: 19和20；
- f) 分別為SEQ ID NO: 23和24；或
- g) 分別為SEQ ID NO: 27和28。

【0099】 在一些具體實例中，該抗LAG-3抗體包含：

- a) 具有SEQ ID NO: 3和30之胺基酸序列的HC以及具有SEQ ID NO: 4和34

之胺基酸序列的LC；

- b) 具有SEQ ID NO: 7和30之胺基酸序列的HC以及具有SEQ ID NO: 8和34之胺基酸序列的LC；
- c) 具有SEQ ID NO: 11和30之胺基酸序列的HC以及具有SEQ ID NO: 12和34之胺基酸序列的LC；
- d) 具有SEQ ID NO: 15和30之胺基酸序列的HC以及具有SEQ ID NO: 16和34之胺基酸序列的LC；
- e) 具有SEQ ID NO: 19和30之胺基酸序列的HC以及具有SEQ ID NO: 20和34之胺基酸序列的LC；
- f) 具有SEQ ID NO: 23和30之胺基酸序列的HC以及具有SEQ ID NO: 24和34之胺基酸序列的LC；或
- g) 具有SEQ ID NO: 27和30之胺基酸序列的HC以及具有SEQ ID NO: 28和32之胺基酸序列的LC。

【0100】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分包含抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011之H-CDR1-3和L-CDR1-3胺基酸序列。

【0101】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分包含分別與抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011的VH和VL至少90%胺基酸序列一致的VH和VL。

【0102】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分包含VH和VL，其分別為抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011的VH和VL。

【0103】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體為抗體15646、15532、15723、15595、15431、15572或15011，或具有與所述抗體相同的胺基

酸序列之抗體。

【0104】 本發明亦提供結合至具有以下胺基酸殘基之人類LAG-3的表位的抗LAG-3抗體或其抗原結合部分：

- a) 選自SEQ ID NO: 68之H85、P86、A87、P89、S91、W92和G93之1、2、3、4、5、6或全部7個胺基酸殘基（例如，抗體15532）；
- b) 選自SEQ ID NO: 68之A40、Q41、P43、P46、P49、D52、T62、Q64、H65、Q66、P67、D68、G93、P94、P96、R98、Y99、T100、V101、P106、G107、R119、E124、R129、G130、D131、S133、R137、P138、D143、R148和R163之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31或全部32個胺基酸殘基（例如，抗體15431）；
- c) 選自SEQ ID NO: 68之A40、Q41、P43、P46、P49、D52、T62、Q64、H65、Q66、P67、D68、P96、Y99、T100、V101、P106、G107、R119、E124、R129、G130、D131、S133、R137、P138、D143、R148和R163之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28或全部29個胺基酸殘基（例如，抗體15572）；或
- d) 選自SEQ ID NO: 68之G107、L109、R110和S111之1、2、3或全部4個的胺基酸殘基（例如，抗體15011）。

【0105】 本發明亦提供結合至具有殘基98-105之人類LAG-3的表位之單株抗體或其抗原結合部分。在一些具體實例中，該抗體或抗原結合部分結合至具有以下胺基酸片段之人類LAG-3的表位：

- a) 選自SEQ ID NO: 68之殘基78-105和123-131的二或三個胺基酸片段

(例如，抗體15532)；

- b) 選自SEQ ID NO: 68之殘基23-30、40-66、88-105、123-137和148-152的一、二、三、四或五個胺基酸片段(例如，抗體15431)；
- c) 選自SEQ ID NO: 68之殘基23-30、40-66、98-105、118-137和148-161的一、二、三、四或五個胺基酸片段(例如，抗體15572)；或
- d) SEQ ID NO: 68之胺基酸殘基 98-105(例如，抗體15011)。

【0106】 本發明亦提供結合至具有SEQ ID NO: 68之殘基23-30和40-66的人類LAG-3之表位的單株抗體或其抗原結合部分。在一些具體實例中，該表位還具有SEQ ID NO: 68之殘基88-105、123-137及/或148-152。在一些具體實例中，該表位還具有SEQ ID NO: 68之殘基98-105、118-137和148-161。

【0107】 本發明亦提供抗LAG-3抗體或其抗原結合部分，其與選自由抗體15532、15646、15723、15595、15431、15572和15011組成之群競爭或交叉競爭相同表位的結合或結合至相同表位。

【0108】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分不會如抗體25F7-Lag3.5般地結合至相同的人類LAG-3之表位。

【0109】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分利用選自由以下組成之群的人類重鏈生殖細胞系基因：IGHV4-34、IGHV1-24、IGHV6-1、IGHV4-39和IGHV3-23。在某些具體實例中，該重鏈生殖細胞系基因與抗LAG3抗體或抗原結合部分中的對應重鏈序列至少75%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致。在某些具體實例中，所述重鏈生殖細胞系基因之架構區序列與抗LAG3抗體或抗原結合部分中的對應重鏈架構區序列至少75%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致。

【0110】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分利用選自由以下組成之群的人類輕鏈生殖細胞系基因：IGKV3-11、IGKV1-12、IGKV1-5和IGLV3-19。在某些具體實例中，該輕鏈生殖細胞系基因與抗LAG3抗體或抗原結合部分中的對應輕鏈序列至少75%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致。在某些具體實例中，所述輕鏈生殖細胞系基因之架構區序列與抗LAG3抗體或抗原結合部分中的對應輕鏈架構區序列至少75%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致。

【0111】 在特定具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分利用上述人類重鏈生殖細胞系基因和人類輕鏈生殖細胞系基因之任何組合（例如，IGHV4-34和IGKV3-11、IGHV1-24和IGKV1-12、IGHV6-1和IGKV3-11、IGHV4-39和IGKV1-5或IGHV3-23和IGLV3-19）。在一些具體實例中，該重鏈和輕鏈生殖細胞系基因分別與抗LAG3抗體或抗原結合部分中的對應重鏈和輕鏈序列至少75%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致。在某些具體實例中，所述重鏈和輕鏈生殖細胞系基因之架構區序列分別與抗LAG3抗體或抗原結合部分中的對應重鏈和輕鏈架構區序列至少75%、80%、82%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%一致。

【0112】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可以下述EC50結合至人類LAG-3：（例如）0.2 nM或更少、0.15 nM或更少、0.1 nM或更少、0.09 nM或更少、0.08 nM或更少、0.07 nM或更少、0.06 nM或更少、0.05 nM或更少或0.04 nM或更少。在一些具體實例中，本文所

述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可以（例如）下述EC50結合至食蟹獼猴LAG-3：0.4 nM或更少、0.3 nM或更少、0.2 nM或更少、0.1 nM或更少、0.09 nM或更少、0.08 nM或更少、0.07 nM或更少、0.06 nM或更少、0.05 nM或更少、0.04 nM或更少或0.03 nM或更少。

【0113】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可以（例如）0.1 nM或更少之EC50結合至人類LAG-3。在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可以（例如）0.3 nM或更少之EC50結合至食蟹獼猴LAG-3。在特定具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可以（例如）0.1 nM或更少之EC50結合至人類LAG-3並以（例如）0.3 nM或更少之EC50結合至食蟹獼猴LAG-3。

【0114】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可抑制諸如第二型MHC（MHCII）或LSEctin之配體對於LAG-3的結合。例如，在20 $\mu\text{g/mL}$ ，相較於負對照組抗體存在下的結合，該抗LAG-3抗體或抗原結合部分可將LAG-3與MHCII的結合減少至少35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60%、至少 65%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%。在一具體實例中，相較於負對照組抗體，該抗LAG-3抗體或抗原結合蛋白可將LAG-3與MHCII的結合減少大於85%。在一具體實例中，相較於負對照組抗體，該抗LAG-3抗體或抗原結合蛋白可將LAG-3與MHCII的結合減少約35%和85%之間。

【0115】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可阻斷LAG-3和第二型MHC（例如，在Jurkat細胞上表現之人類LAG-3和在Raji細胞上表現之人類第II型MHC）之間的結合（例如在0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、30 $\mu\text{g/mL}$ 、40 $\mu\text{g/mL}$ 或50

μg/mL之濃度下)。

【0116】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者以表面電漿共振來測量可以下述 K_D 結合至人類LAG-3： 5.0×10^{-8} 或更少、 4.0×10^{-8} 或更少、 3.0×10^{-8} 或更少、 2.0×10^{-8} 或更少、 1.0×10^{-8} 或更少、 9.0×10^{-9} 或更少、 8.0×10^{-9} 或更少、 7.0×10^{-9} 或更少、 6.0×10^{-9} 或更少、 5.0×10^{-9} 或更少、 4.0×10^{-9} 或更少、 3.0×10^{-9} 或更少、 2.0×10^{-9} 或更少或 1.0×10^{-9} 或更少。

【0117】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者以表面電漿共振來測量可以下述 K_D 結合至食蟹獼猴LAG-3： 1.5×10^{-7} 或更少、 1.0×10^{-7} 或更少、 9.0×10^{-8} 或更少、 8.0×10^{-8} 或更少、 7.0×10^{-8} 或更少、 6.0×10^{-8} 或更少、 5.0×10^{-8} 或更少、 4.0×10^{-8} 或更少、 3.0×10^{-8} 或更少、 2.0×10^{-8} 或更少或 1.0×10^{-8} 或更少。

【0118】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者以表面電漿共振來測量可以下述 K_D 結合至小鼠LAG-3： 5.0×10^{-8} 或更少、 4.5×10^{-8} 或更少、 4.0×10^{-8} 或更少、 3.5×10^{-8} 或更少或 3.0×10^{-8} 或更少。

【0119】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可刺激IL-2的產生，(例如)從經SEB刺激的PBMC。

【0120】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可減少(例如)在人類T細胞系(諸如過度表現LAG-3之人類T細胞系)中之細胞的及/或可溶的LAG-3水平。

【0121】 在一些具體實例中，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可誘導活體內腫瘤生長退化及/或延遲腫瘤生長。

【0122】 在一些具體實例中，相較於抗體25F7-Lag3.5，本文所述之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的任一者可結合至不同的人類LAG-3之表位。

【0123】 在一具體實例中，投予本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分可活化T細胞，使得抗腫瘤活性增加。

【0124】 藉由本文所述之方法獲得的抗LAG-3抗體之類型可以另一類型或亞型來改變或轉換。在本發明之一態樣中，使用技術領域中熟知的方法來分離編碼VL或VH的核酸分子，分別使其不包含編碼CL或CH的核酸序列。然後將編碼VL或VH的核酸分子分別與來自不同類別的免疫球蛋白分子之編碼CL或CH的核酸序列操作地連接。此可以使用如上所述的包含CL或CH鏈的載體或核酸分子來達成。例如，最初為IgM的抗LAG-3抗體可以經類別轉換為IgG。此外，類別轉換可用於將一IgG亞型轉換為另一者，例如從IgG₁轉換為IgG₂。可將 κ 輕鏈恆定區改變為（例如） λ 輕鏈恆定區。用於產生具有所需的Ig同型之本發明的抗體之較佳的方法包括以下步驟：分離編碼抗LAG-3抗體之重鏈的核酸分子和編碼抗LAG-3抗體之輕鏈的核酸分子，獲得重鏈之可變域，連接該重鏈的可變域與所需的同型之重鏈的恆定區，在細胞中表現輕鏈和所連接的重鏈，並收集具有所需同型之抗LAG-3抗體。

【0125】 本發明之抗LAG-3抗體可為IgG、IgM、IgE、IgA或IgD分子，但典型地為IgG同型，例如為IgG亞型IgG₁、IgG_{2a}或IgG_{2b}、IgG₃或IgG₄。在一具體實例中，該抗體為IgG₁。在另一具體實例中，該抗體為IgG₂。在某些具體實例中，結合至本文所述之LAG-3表位的本發明之IgG₁抗體在調控（例如，抑制）LAG-3功能以達成癌症治療或免疫刺激功效方面，提供優異的活性。

【0126】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體可包含至少一個Fc區域中的突變。已知許多不同的Fc突變，其中這些突變提供改變的效應功能。例如，在許多情況下，將會需要減少或消除效應功能，例如在不想要配體/受體相互作用之處或在抗體-藥物共軛物的情況下。

【0127】 在一具體實例中，該抗LAG-3抗體包含至少一個減少效應功能

之Fc區域中的突變。有利於突變以減少效應功能之Fc區域胺基酸位置包括位置228、233、234和235中的一或多者，其中胺基酸位置係根據IMGT[®]編號方法來編號。

【0128】 在一具體實例中，在位置234和235之一或兩個胺基酸殘基（例如）從Leu經突變為Ala（L234A/L235A）。這些突變減少IgG₁抗體之Fc區域的效應功能。額外地或可替代地，在位置228之胺基酸殘基可經突變（例如）為Pro。在一些具體實例中，在位置233之胺基酸殘基可經突變（例如）為Pro，在位置234之胺基酸殘基可經突變（例如）為Val及/或在位置235之胺基酸殘基可經突變（例如）為Ala。該胺基酸位置係根據IMGT[®]編號方法來編號。

【0129】 在一些具體實例中，其中該抗體為IgG₄亞型，其可包含突變S228P，即在位置228有脯胺酸，其中該胺基酸位置係根據IMGT[®]編號方法來編號。已知此突變可減少不想要的Fab臂交換。

【0130】 在某些具體實例中，本發明之抗體或其抗原結合部分可為較大的免疫黏附分子之部分，其藉由抗體或抗體部分與一種或多種其他蛋白質或胜肽的共價或非共價結合而形成。該等免疫黏附分子之部分的實例為包括使用鏈黴抗生物素蛋白（streptavidin）核心區域來製造四聚體的scFv分子（Kipriyanov等人，*Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101(1995)）以及使用半胱胺酸殘基、標記胜肽和C端聚組胺酸標籤來製造二價的且經生物素化的scFv分子（Kipriyanov等人，*Mol. Immunol.* 31:1047-1058(1994)）。其他實例包括，其中來自抗體的一或多個CDR以共價或非共價方式併入分子中以使其成為特異性結合至目標抗原的免疫黏附素。在此具體實例中，可將CDR併入作為較大的多肽鏈之部分，其可共價連接至另一多肽鏈或可以非共價方式併入。

【0131】 在另一具體實例中，可製造融合抗體或免疫黏附素，其包含與另一多肽連接的本發明之抗LAG-3抗體的全部或部分。在某些具體實例中，只

有抗LAG-3抗體的可變域連接至多肽。在某些具體實例中，抗LAG-3抗體的VH域連接至第一多肽，而抗LAG-3抗體的VL域連接至第二多肽，該第二多肽與第一多肽相連以使VH和VL域能彼此相互作用而形成抗原結合位點。在另一較佳的具體實例中，藉由連接子分開VH域和VL域以使VH和VL域能夠彼此相互作用（例如，單鏈抗體）。然後將VH-連接子-VL抗體連接至目標多肽。此外，可產生其中兩個（或更多個）單鏈抗體彼此連接的融合抗體。若想要在單一多肽鏈上產生二價或多價抗體或者想產生雙特異性抗體，此是有用的。

【0132】 為了產生單鏈抗體（scFv），將編碼VH和VL之DNA片段操作地連接至編碼可彎曲的连接子（例如，編碼胺基酸序列（Gly4 -Ser）₃（SEQ ID NO: 74）之另一片段，使得VH和VL序列可以表現為具有由可彎曲的连接子結合的VL和VH域之連續的單鏈蛋白質。參見（例如）Bird等人，*Science* **242**:423-426（1988）；Huston等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**:5879-5883（1988）；以及 McCafferty等人，*Nature* **348**:552-554（1990）。單鏈抗體可為單價的（若僅使用單一的VH和VL）；二價的（若使用兩個VH和VL）；或多價的（若使用超過兩個VH和VL）。例如，可產生特異性結合至人類LAG-3和另一分子之雙特異性或多價的抗體。

【0133】 在其他具體實例中，可使用編碼抗LAG-3抗體之核酸分子來製備其他修飾抗體。例如，可依據說明書之教示使用標準分子生物學技術來製備「 κ 抗體（kappa body）」（Ill等人，*Protein Eng.* **10**:949-57（1997））、「微抗體（minibody）」（Martin等人，*EMBO J.* **13**:5303-9（1994））、「雙抗體（diabody）」（Holliger等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**: 6444-6448（1993））或「Janusins」（Traunecker等人，*EMBO J.* **10**:3655-3659（1991）和Traunecker等人，*Int. J. Cancer*（Suppl.）**7**:51-52（1992））。

【0134】 可將本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分衍生或連接至另一

分子（例如，另一胜肽或蛋白質）。一般而言，以使LAG-3結合不受衍生化或標記的不利影響之方式來衍生化抗體或其部分。因此，本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分旨在包含本文所述之人類抗LAG-3抗體的完整和修飾形式兩者。例如，本發明之抗體或抗體部分可功能性連接（藉由化學偶合、基因融合、非共價性結合或其他方式）至一或多個其他分子實體（molecular entity），諸如可以介導抗體或抗體部分與另一分子（諸如鏈黴抗生物素蛋白核心區域或聚組胺酸標籤）結合之另一抗體（例如，雙特異性抗體或雙抗體）、檢測劑、醫藥劑及/或蛋白質或胜肽。

【0135】 一類型的衍生化抗體係藉由交聯兩個或多個抗體來產生（以相同類型或不同類型之抗體（例如）來產生雙特異性抗體）。合適的交聯劑包括異雙官能的、具有兩個以合適間隔基（spacer）分開的不同反應性基團者（例如，間-馬來醯亞胺苯甲醯-N-羥基琥珀醯亞胺酯）或同雙官能者（例如二琥珀醯亞胺基辛二酸酯）。該等連接基可自（例如）Pierce Chemical Company（Rockford, IL）獲得。

【0136】 也可以諸如聚乙二醇（PEG）、甲基或乙基或碳水化合物基團之化學基團來衍生化抗LAG-3抗體。這些基團可用於改善該抗體之生物學特性，例如，增加血清半衰期。

【0137】 也可標示根據本發明之抗體。如在此所用的，用語「標示（label）」或「標示的/被標示的（labeled）」係指將另一分子併入抗體中。在一具體實例中，該標示為可檢測的標記（marker），（例如）併入放射性標示的胺基酸或附接至可藉由標記的卵白素檢測之生物素部分的多肽（例如，含有可藉由光學或比色方法檢測之酵素活性或螢光標記的鏈黴抗生物素蛋白）。在另一具體實例中，該標示或標記可為有治療性的，例如藥物共軛物或毒素。標示多肽和醣蛋白之各種方法係技術領域中已知的且是可使用的。用於多肽之標

示物的實例包括（但不限於）以下者：放射性同位素或放射性核素（例如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I ）、螢光標示（例如FITC、玫瑰紅、鑷系元素磷光體）、酵素標示物（例如山葵過氧化酶、 β 半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶）、化學發光標記物、生物素基團、由次級報導子（reporter）辨識的預定多肽表位（例如白胺酸拉鍊對序列、二級抗體之結合位點、金屬結合域、表位標籤）、磁性劑（諸如釷螯合物）、諸如百日咳毒素之毒素、紫杉醇、細胞鬆弛素B、短桿菌素D、溴化乙錠、吐根素、絲裂黴素、依托泊苷（etoposide）、替尼泊苷（teniposide）、長春新鹼（vincristine）、長春花鹼、秋水仙鹼、阿黴素（doxorubicin）、道諾黴素、二羥基炭疽菌素二酮（dihydroxy anthracin dione）、米托蒽醌（mitoxantrone）、光神黴素（mithramycin）、放線菌素D、1-脫氫甾酮、糖皮質素、普魯卡因（procaine）、四卡因（tetracaine）、利多卡因（lidocaine）、心得安（propranolol）和嘌呤黴素及其類似物或同源物。在一些具體實例中，藉由各種長度之間隔子臂（spacer arm）來附接標記物以減少潛在的空間位阻。

【0138】 在某些具體實例中，本發明之抗體可為中性形式（包括兩性的離子形式）或以帶正電或帶負電的物質存在。在一些具體實例中，該抗體可與相對離子錯合以形成醫藥上可接受的鹽。

【0139】 用語「醫藥上可接受的鹽」係指包含一或多個抗體以及一或多個相對離子之錯合物，其中該相對離子係衍生自醫藥上可接受的無機和有機酸和鹼。

雙特異性結合分子

【0140】 在另一態樣中，本發明提供雙特異性結合分子，其具有本文所述之抗LAG-3抗體的結合特異性（例如，包含抗原結合部分）以及另一抗LAG-3抗體（例如，本文所述之另一抗LAG-3抗體）或靶向不同的蛋白質（諸如另一

免疫查核點蛋白質、癌症抗原或其活性介導諸如癌症之疾病病狀的另一細胞表面分子)之抗體的結合特異性。該雙特異性結合分子係技術領域中已知的，且本文的其他內容提供了不同類型的雙特異性結合分子之實例。

核酸分子和載體

【0141】 本發明亦提供編碼本文所述的抗LAG-3抗體或其抗原結合部分之核酸分子和序列。在一些具體實例中，不同的核酸分子編碼抗LAG-3抗體或其抗原結合部分之重鏈和輕鏈胺基酸序列。在其他具體實例中，相同的核酸分子編碼抗LAG-3抗體或其抗原結合部分之重鏈和輕鏈胺基酸序列。

【0142】 除非另有說明，否則對核苷酸序列的引用包含其補體。因此，引用具有特定序列的核酸應被理解為包含其互補股及其互補序列。本文所引的用語「多核苷酸」是指長度為至少10個鹼基的核苷酸的聚合形式，核糖核苷酸或去氧核苷酸或任一種核苷酸的修飾形式。該用語包括單股和雙股形式。

【0143】 本發明亦提供與本文所述的一個或多個核苷酸序列（例如，選自SEQ ID NO: 1、2、5、6、9、10、13、14、17、18、21、22、25和26組成之群的核苷酸序列或編碼選自SEQ ID NO: 3、4、7、8、11、12、15、16、19、20、23、24、27和28的胺基酸序列組成之群的核苷酸序列）至少70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%或99%一致的核苷酸序列。核酸序列之內容中的用語「百分比序列一致性」係指，當以最大對應關係比對時兩條序列中的相同殘基。序列一致性比較的長度可以是至少約9個核苷酸的片段，通常為至少約18個核苷酸，較常為至少約24個核苷酸，典型地為至少約28個核苷酸，更典型地為至少約32個核苷酸，且較佳為至少約36、48或更多個核苷酸。有許多技術領域中已知的不同演算法，其可用於測量核苷酸序列之一致性。例如，使用FASTA、Gap或Bestfit（其為Wisconsin Package版本10.0，Genetics Computer Group(GCG)，Madison, Wisconsin中的程式）來比較聚核苷

酸序列。FASTA（其包括（例如）FASTA2和FASTA3程式）提供了詢問和檢索的序列之間最佳重疊區域的比對以及百分比序列一致性（參見，例如Pearson，*Methods Enzymol.* 183：63-98(1990)；Pearson，*Methods Mol.Biol.* 132：185-219(2000)；Pearson，*Methods Enzymol.* 266：227-258(1996)；以及Pearson，*J. Mol. Biol.* 276：71-84(1998)；以參考方式併入本文中）。除非另外指明，否則使用特定程式或演算法的預設參數。例如，可以使用有預設參數（字大小為6且用於記分矩陣（scoring matrix）的NOPAM因子）之FASTA或者使用有如在GCG版本6.1（以參考方式併入本文）中提供的預設參數的Gap來確定核酸序列之間的百分比序列一致性。

【0144】 在一態樣中，本發明提供核酸分子，其包含選自由SEQ ID NO: 1、2、5、6、9、10、13、14、17、18、21、22、25和26組成之群的核苷酸序列。在某些具體實例中，該核酸分子包含以下之核苷酸序列：SEQ ID NO: 1和2、SEQ ID NO: 5和6、SEQ ID NO: 9和10、SEQ ID NO: 13和14、SEQ ID NO: 17和18、SEQ ID NO: 21和22或SEQ ID NO: 25和26。

【0145】 在上述具體實例之任一者中，該核酸分子可為經分離的。

【0146】 在另一態樣中，本發明提供適合用於表現本文所述的抗體或其抗原結合部分的鏈之一的載體。本文所用的用語「載體」，意指能夠運送與其連接的另一核酸之核酸分子。在一些具體實例中，該載體為質體，即可連接其他DNA片段之DNA的環狀雙股片段。在一些具體實例中，該載體為病毒載體，其中額外的DNA片段可連接到病毒基因組中。在一些具體實例中，該載體能夠在其所導入的宿主細胞中自行複製（例如，具有細菌複製源的細菌載體和附加型哺乳動物載體）。在其他具體實例中，載體（例如非附加型哺乳動物載體）可在導入宿主細胞後整合到宿主細胞之基因組中。此外，某些載體能夠將導向其所操作地連接之基因的表現。該載體在本文中稱為「重組表現載體」（或簡

稱「表現載體」)。

【0147】 本發明提供包含核酸分子之載體，該核酸分子編碼本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分的重鏈、本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分的輕鏈或本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分的重鏈和輕鏈兩者。本發明進一步提供包含編碼融合蛋白、修飾抗體、抗體片段和其探針之核酸分子的載體。

【0148】 編碼本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分的重鏈及/或輕鏈之核酸分子可從任何產生該抗體或部分的來源分離。在多個具體實例中，該核酸分子係從表現抗LAG-3抗體的B細胞中分離，其從經人類LAG-3抗原免疫化之動物中分離，或從該B細胞所產生之不朽化細胞中分離。分離編碼抗體之核酸的方法是技術領域所熟知的。mRNA可經分離並用於產生在聚合酶連鎖反應(PCR)或抗體基因之cDNA選殖的cDNA。在某些具體實例中，本發明之核酸分子可以是合成的，而非經分離的。

【0149】 在一些具體實例中，本發明之核酸分子可包含編碼來自本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的VH域之核苷酸序列，其框內(in-frame)接合至編碼來自任何來源之重鏈恆定區的核苷酸序列。同樣地，本發明之核酸分子可包含編碼來自本發明之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的VL域之核苷酸序列，其框內接合至編碼來自任何來源之輕鏈恆定區的核苷酸序列。

【0150】 在本發明之另一態樣中，編碼重鏈(VH)及/或輕鏈(VL)的可變域之核酸分子可以被「轉化」為全長抗體基因。在一具體實例中，藉由插入至已分別編碼重鏈恆定區(CH)或輕鏈恆定區(CL)的表現載體中，將編碼VH或VL域之核酸分子轉化為全長抗體基因，使VH片段操作地連接至載體內的CH區段，及/或使VL區段操作地連接至載體內的CL區段。在另一具體實例中，藉由使用標準分子生物學技術來連接(例如，接合(ligating))編碼VH

及/或VL域之核酸分子至編碼CH或CL區域的核酸分子，將編碼VH或VL域之核酸分子轉化為全長抗體基因。然後，可將編碼全長重鏈及/或輕鏈的核酸分子從其已經導入的細胞以及經分離的抗LAG-3抗體中表現。

【0151】 核酸分子可以用於重組表達大量的抗LAG-3抗體。如本文所述，核酸分子還可以用於產生嵌合抗體、雙特異性抗體、單鏈抗體、免疫黏附素、雙抗體、突變抗體和抗體衍生物。

【0152】 在另一具體實例中，本發明之核酸分子係用作特異性抗體序列之探針或PCR引子。例如，該核酸可用作診斷方法中的探針或作為PCR引子以擴增可用於（特別是）分離編碼抗LAG-3抗體之可變域的其他核酸分子之DNA區域。在一些具體實例中，該核酸分子是寡核苷酸。在一些具體實例中，該寡核苷酸來自目標抗體之重和輕鏈之高度可變域。在一些具體實例中，該寡核苷酸編碼本文所述之本發明的抗LAG-3抗體或抗原結合部分之一或多個CDR的全部或部分。

【0153】 在另一具體實例中，該核酸分子和載體可用於製造突變的抗LAG-3抗體。該抗體可在重及/或輕鏈之可變域中突變，例如，改變該抗體的結合特性。例如，可在一或多個CDR中製造突變以增加或減少抗LAG-3抗體之 K_D 、增加或減少抗LAG-3抗體之 k_{off} 、或改變該抗體之結合特異性。在另一具體實例中，一或多個突變在胺基酸殘基上進行，其係相較於本發明之單株抗體的生殖細胞系可知的改變。可在恆定區或可變域之CDR或架構區中進行突變。在較佳的具體實例中，在可變域進行突變。在一些具體實例中，一或多個突變在胺基酸殘基上進行，其係相較於本發明之抗體或其抗原結合部分的可變域之CDR或架構區中的生殖細胞系可知的改變。

【0154】 在另一具體實例中，架構區係突變的，使得所產生的架構區具有對應的生殖細胞系基因之胺基酸序列。突變可在架構區或恆定區中進行以增

加抗LAG-3抗體的半衰期。參見例如，PCT公開文件WO 00/09560。也可進行在架構區或恆定區中的突變以改變抗體的免疫原性及/或提供與另一分子共價或非共價結合的位點。根據本發明，單一抗體可以有在恆定區或在可變域的任一或多個CDR或架構區中的突變。

【0155】 在一些具體實例中，藉由以下方式表現本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分：將（如上所述的方式獲得的）編碼部分或全長之輕和重鏈的DNA插入至表現載體，使得該基因操作地連接至必要的表現控制序列，諸如轉錄和轉譯控制序列。表現載體包括質粒、反轉錄病毒、腺病毒，腺相關病毒（AAV）、植物病毒（諸如花椰菜嵌紋病毒、菸草嵌紋病毒）、黏接質體、YAC、EBV衍生的游離基因體等等。可將抗體編碼序列連接到載體，使得載體中的轉錄和轉譯控制序列提供其調節該抗體編碼序列之轉錄和轉譯的預期功能。表現載體和表現控制序列可經選擇以使其與所用的表現宿主細胞相容。抗體輕鏈編碼序列和抗體重鏈編碼序列可被插入至不同的載體，並經可操作地連接至相同或不同的表現控制序列（例如，啟動子）。在一具體實例中，兩種編碼序列被插入至相同的載體並可經操作地連接至相同的表現控制序列（例如，共同的啟動子），以分離相同的表現控制序列（例如，啟動子）或連接至不同的表現控制序列（例如，啟動子）。可藉由標準方法（例如，在抗體基因片段和載體上接合互補性限制位點（complementary restriction site），或若無限制位點，則藉由平端接合（blunt end ligation）），將抗體編碼序列插入至表現載體。

【0156】 適宜的載體為編碼功能性完整的人類CH或CL免疫球蛋白序列者，其具有經設計之適當的限制性位點，使得可很容易插入或表現任何VH或VL序列，如上所述。在該載體中編碼HC和LC之基因可含有內含子序列，其會藉由穩定相關的mRNA來產生增加的整體抗體蛋白質產量。內含子序列係經由

剪接供體和剪接受體位點（splice acceptor site）來側面相接，此決定RNA剪接的發生位置。內含子序列之位置可在抗體鏈之可變區或恆定區中，或當使用多個內含子時，可在可變區和恆定區兩者中。多腺核苷酸化和轉錄終止可發生於編碼區下游的天然染色體位點。重組表現載體也可編碼訊息胜肽，其促使來自宿主細胞之抗體鏈的分泌作用。可選殖抗體鏈基因至載體中，使得訊息胜肽框內連接至免疫球蛋白鏈的胺基末端。訊息胜肽可以是免疫球蛋白訊息胜肽或異源的訊息胜肽（即，來自非免疫球蛋白的訊息胜肽）。

【0157】 除了抗體鏈基因之外，本發明之重組表現載體也可帶有控制宿主細胞中之抗體鏈基因的表現之調節序列。發明所屬技術領域中具有通常知識者會認同，表現載體的設計（包括調節序列的選擇）可取決於以下因素：諸如待轉化之宿主細胞的選擇、所需之蛋白質的表現水平等。用於哺乳動物宿主細胞表現之較佳的調節序列包括引導哺乳動物細胞中高水平的蛋白表現之病毒元件，諸如源自以下之啟動子及/或增強子：反轉錄病毒LTR、細胞巨大病毒之（CMV）（諸如CMV啟動子/增強子）、猿猴病毒40（SV40）（諸如SV40啟動子/增強子）、腺病毒（諸如腺病毒主要晚期啟動子（AdMLP））、多瘤病毒以及諸如天然免疫球蛋白和肌動蛋白啟動子之強哺乳動物啟動子。關於病毒調節元件及其序列之進一步描述，可參見例如美國專利5,168,062、4,510,245和4,968,615。在植物中表現抗體之方法（包括啟動子和載體的描述以及植物的轉型）是技術領域中已知的。參見（例如）美國專利6,517,529。在細菌細胞或真菌細胞（例如酵母細胞）中表現多肽之方法也是技術領域中熟知的。

【0158】 除了抗體鏈基因和調節序列之外，本發明之重組表現載體也可帶有額外的序列，諸如調控宿主細胞中的載體之複製的序列（例如，複製的原點）和選擇性標記的基因。選擇性標記的基因有助於選擇已導入載體之宿主細胞（參見例如，美國專利4,399,216、4,634,665和5,179,017）。例如，典型地，

選擇性標記的基因賦予已導入載體之宿主細胞對藥物（例如G418、潮黴素或胺甲喋呤）之抗性。例如，選擇標記基因包括二氫葉酸還原酶（DHFR）基因（用於有胺甲喋呤選擇/擴增之dhfr-宿主細胞）、neo基因（用於G418選擇）以及麩胺酸合成酶之基因。

【0159】 本文所用的用語「表現控制序列」意指進行與其接合之編碼序列的表現和處理所必需的多核苷酸序列。表現控制序列包括合適的轉錄啟動、終止、啟動子和增強子序列；諸如剪接和聚腺苷酸化信號之有效的RNA處理信號；穩定細胞質mRNA的序列；增強轉譯效率的序列（即，Kozak共有序列）；增強蛋白質穩定性的序列；以及（當需要時）增加蛋白質分泌的序列。該控制序列之性質會根據宿主生物體而有差異；在原核生物中，該控制序列一般包括啟動子、核糖體結合位點和轉錄終止序列；在真核生物中，一般而言，該控制序列包括啟動子和轉錄終止序列。用語「控制序列」意指包括（至少）對於表現和處理必須存在的所有組分，且也可包括額外的有利組分，例如前導序列和融合伴侶序列。

宿主細胞及抗體和抗體組成物之製造方法

【0160】 本發明之其他態樣係關於產生本發明之抗體組成物以及抗體和其抗原結合部分之方法。本發明之此態樣的一具體實例係關於產生本文所定義之抗體的方法，包含提供能夠表現該抗體之重組的宿主細胞，在適合表現該抗體的條件下培育所述宿主細胞，以及分離所產生的抗體。藉由在該重組宿主細胞中表現所產生的抗體在此稱為「重組抗體」。本發明亦提供該宿主細胞之子代細胞以及其所產生的抗體。

【0161】 用語「重組宿主細胞」（或簡稱「宿主細胞」），如本文所用的，意指已引入重組表現載體之細胞。本發明提供可包含（例如）上述本發明的載體之宿主細胞。本發明亦提供包含（例如）以下者之宿主細胞：編碼本發

明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分的重鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列、編碼本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分的輕鏈或其抗原結合部分之核苷酸序列或兩者。應理解，「重組宿主細胞」和「宿主細胞」不僅意指特定的受試細胞，也意指該細胞的子代。由於在後代中可能因突變或環境影響而發生某些修飾，所以這樣的子代實際上可能不會與親代細胞相同，但仍包括在本文所用的用語「宿主細胞」的範圍內。

【0162】 編碼抗LAG-3抗體之核酸分子以及包含這些核酸分子的載體可用於合適的哺乳動物、植物、細菌或酵母菌宿主細胞之轉染。轉型（transformation）可藉由任何用於將多核苷酸引入至宿主細胞之任何已知的方法來進行。將異源多核苷酸引入哺乳動物細胞的方法是本領域熟知的，且包括聚葡萄糖介導的轉染、磷酸鈣沉澱、聚凝胺介導的轉染、原生質體融合、電穿孔，在脂質體中多核苷酸的包覆、以及直接顯微注射DNA至細胞核。此外，可以藉由病毒載體將核酸分子引入至哺乳動物細胞中。細胞轉型的方法係技術領域中所熟知的。參見（例如）美國專利4,399,216、4,912,040、4,740,461和4,959,455。植物細胞轉型的方法係技術領域中所熟知的，包括（例如）農桿菌介導的轉型、基因槍轉型、直接注射、電穿孔和病毒轉型。細菌和酵母細胞轉型的方法也是技術領域中所熟知的。

【0163】 可作為表現之宿主的哺乳動物細胞系是技術領域中所熟知的，且包括許多可從美國典型培養物保藏中心（ATCC）獲得的不朽化細胞系。這些包括（尤其是）中國倉鼠卵巢（CHO）細胞、NS0細胞、SP2細胞、HEK-293T細胞、293自由式（freestyle）細胞（Invitrogen）、NIH-3T3細胞、HeLa細胞、幼倉鼠腎（BHK）細胞、非洲綠猴腎細胞（COS）、人類肝細胞癌細胞（例如，Hep G2）、A549細胞以及許多其他細胞系。特定較佳的細胞系是藉由確定哪些細胞系具有高表現水平來作選擇。其他可使用的細胞系是昆蟲細

胞系，例如Sf9或Sf21細胞。當編碼抗體基因之重組表現載體被引入至哺乳動物宿主細胞時，藉由培育該宿主細胞一段時間來產生該抗體，所述時間足夠使抗體在宿主細胞中表達，或更佳地，使抗體分泌至宿主細胞生長的培養基。使用標準蛋白質純化方法可從培養基中回收抗體。植物宿主細胞包括（例如）菸草（*Nicotiana*）、阿拉伯芥（*Arabidopsis*）、浮萍、玉米、小麥、馬鈴薯等。細菌宿主細胞包括大腸桿菌（*E. coli*）和鏈黴菌（*Streptomyces*）屬物種。酵母宿主細胞包括粟酒裂殖酵母（*Schizosaccharomyces pombe*），釀酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）和巴斯德畢赤酵母（*Pichia pastoris*）。

【0164】 此外，使用許多已知技術可增強來自生產細胞系之本發明的抗體或其抗原結合部分的表現。例如，麩氨酰胺合成酶基因表達系統（GS系統）是在某些條件下增強表現之常用方式。GS系統全部或部分相關地在EP專利0 216 846、0 256 055、0 323 997和0 338 841中進行了討論。

【0165】 由不同細胞系或轉基因動物表現的抗體可能彼此具有不同的醮化模式。然而，無論抗體的醮化狀態為何，且更概括言之，無論是否存在或沒有轉譯後修飾，本文所有提供之核酸分子所編碼的抗體或包含本文提供之胺基酸序列的抗體，皆為本發明的一部分。

醫藥組成物

【0166】 本發明之另一態樣為醫藥組成物，包含作為活性成分（或作為唯一活性成分）之本發明的抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、雙特異性結合分子或抗體組成物。該醫藥組成物可包含任何本文所述的抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、雙特異性結合分子或抗體組成物。在一些具體實例中，該醫藥組成物意指用於改善，預防及/或治療LAG-3相關病症及/或癌症。如本文所用，LAG-3相關或介導的病症係指可藉由調控LAG-3活性而改善或減緩其進展的病症、疾病或病狀。在一些具體實例中，該組成物意指用於活化免疫系統。在某

些具體實例中，該醫藥組成物意指用於改善，預防及/或治療源自諸如以下組織的癌症：皮膚、肺、腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎、軟組織、造血系統、頭和頸、肝、膀胱、乳房、胃、子宮和胰臟。在某些具體實例中，該癌症係纖維肉瘤、肺癌或黑素瘤。在某些具體實例中，該癌症係神經膠質母細胞瘤、神經膠肉瘤或結腸直腸癌。在某些具體實例中，本發明的醫藥組成物意指用於治療牛皮癬。

【0167】 一般而言，本發明之抗體、抗原結合部分和雙特異性結合分子適合與一或多個（例如如下所述的）醫藥上可接受的賦形劑組合作為調配物來投予。

【0168】 本發明之醫藥組成物將包含一或多個本發明之抗LAG-3抗體、結合部分或雙特異性結合分子，例如一或兩個抗LAG-3抗體、結合部分或雙特異性結合分子。在一具體實例中，該組成物包含單一個本發明之抗LAG-3抗體或其結合部分。

【0169】 在另一具體實例中，該醫藥組成物可包含至少一個抗LAG-3抗體或其抗原結合部分（例如一個抗LAG-3抗體或部分）以及靶向一或多個相關的細胞表面受體（例如一或多個癌症相關之受體）之一或多個其他抗體。

【0170】 本文所用的用語「賦形劑」係用於描述除了本發明之化合物以外的任何成分。賦形劑之選擇，在很大程度上將取決於諸如特定的投予方式、賦形劑在溶解度和穩定性之功效以及劑型之性質等因素。如本文所用的，「醫藥上可接受的賦形劑」包括生理上相容之任何和全部的溶劑、分散介質、包衣、抗細菌和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等等。醫藥上可接受的賦形劑之一些實例為水、鹽水，磷酸鹽緩衝鹽水、右旋糖、甘油、乙醇等及其組合。在許多情況下，組成物中包含等滲劑（例如糖、多元醇如甘露醇，山梨糖醇或氯化鈉）是較佳的。醫藥上可接受的物質之其他實例為潤濕劑或少量的輔助物

質，諸如潤濕劑或乳化劑，防腐劑或緩衝劑，其提高抗體的儲存期或有效性。

【0171】 本發明之醫藥組成物和其製備方法對於發明所屬技術領域中具有通常知識者是很清楚的。該等組成物和其製備方法可見於（例如）*Remington's Pharmaceutical Sciences*，第19版（Mack Publishing Company，1995）。醫藥組成物較佳是在GMP（良好作業規範）條件下製造。

【0172】 本發明之醫藥組成物作為單一單位劑量或作為複數個單一單位劑量來製備、包裝或批售。如本文所用的，「單位劑量」是包含預定量活性成分的醫藥組成物之之分別的量。一般而言，活性成分的量等於被投予至個體之活性成分的劑量或該劑量之合適的分量，例如，該劑量之二分之一或三分之一。

【0173】 技術領域所接受之任何投予胜肽、蛋白質或抗體的方法適用於本發明之抗體和抗原結合部分。

【0174】 本發明之醫藥組成物典型地適用於非經腸投予。如本文所用的，醫藥組成物之「非經腸投予」包括以對個體之組織進行物理破壞並透過該破壞在組織中投予醫藥組成物為特徵之任何投予途徑，因此一般會導致直接投予至血流中、肌肉中或內部器官中。非經腸投予因此包括（但不限於）藉由以下方式投予醫藥組成物：透過注射來投予組成物、透過手術切口施用組成物、透過穿透組織的非手術傷口來施用組成物等等。特別是，非經腸投予被認為包括（但不限於）皮下，腹膜內，肌肉內，胸骨內，靜脈內，動脈內，鞘內，心室內，尿道內，顱內，腫瘤內和滑膜內注射或輸液；以及腎透析輸液技術。區域灌注也被認為包括在其中。特定的具體實例包括靜脈內和皮下途徑。

【0175】 適用於非經腸投予之醫藥組成物的調配物典型地包含與醫藥上可接受的載劑（諸如無菌水或無菌等滲鹽水）組合之活性成分。該調配物可以適用於推注投予（bolus administration）或連續投予的形式製備、包裝或出售。

可注射的調配物可以單位劑型的方式製備、包裝或出售，諸如安瓿或含有防腐劑的多劑量容器中。用於非經腸投予之調配物包括（但不限於）懸浮液、溶液、油性或水性媒劑中的乳劑、糊劑等等。該調配物可進一步包含一或多種其他成分，包括（但不限於）懸浮、穩定或分散劑。在非經腸投予之調配物的一具體實例中，活性成分以乾燥（即粉末或顆粒）形式提供，以合適的媒劑（例如，無菌的無熱原水）在非經腸投予經復水的組合物之前進行復水。非經腸調配物也包括可含有賦形劑（例如鹽、碳水化合物和緩衝劑（較佳pH 3至9）之水溶液，但是對於某些應用，其可以更適合經調配為無菌非水溶液或為與合適的媒劑（例如，無菌的無熱原水）結合之乾燥形式一起使用。例示性的非經腸投予形式包括溶液或在無菌水溶液中的懸浮液，例如丙二醇水溶液或右旋糖水溶液。若有需要，可適當緩衝該劑型。其他可用的非經腸投予的調配物包括包含呈微晶形式或在脂質體製劑中的活性成分之調配物。用於非經腸投予之調配物可經調配以立即及/或改變釋放。改變釋放調配物包括延遲釋放，持續釋放，脈衝釋放，控制釋放，靶向釋放和設計釋放（programed release）。

【0176】 例如，在一態樣中，可藉由將抗LAG-3抗體、其抗原結合部分、雙特異性結合分子或抗體組合物以所需的量併入適當溶劑，根據需要，以上面所列舉的一或多種成分的組合，隨後過濾滅菌來製備無菌可注射的溶液。一般而言，藉由將活性化合物併入至含有鹼性分散介質和來自以上所列舉之所需的其他成分的無菌媒劑中來製備分散劑。關於用於製備無菌可注射的溶液之無菌粉末，較佳的製備方法是真空乾燥和冷凍乾燥，從其先前無菌過濾的溶液中產生活性成分及任何其他所需的成分之粉末。藉由（例如）使用諸如卵磷脂的包衣、藉由在分散的情況下維持所需的粒度並藉由使用表面活性劑，以維持溶液之適當的流動性。可藉由在組合物中添加延遲吸收試劑（例如，單硬脂酸鹽和明膠）及/或通過使用改變釋放的包衣（例如，緩釋包衣），來延長可注射

組合物的吸收。

【0177】 本發明之抗體也可以經鼻內投予或藉由吸入的方式投予，典型地以乾粉形式（單獨、作為混合物或作為混合組分顆粒，例如與合適的醫藥上可接受之賦形劑混合），從乾粉吸入器投予，乾粉吸入器為來自加壓容器、泵、噴灑器（spray）、霧化器（atomizer）（較佳使用電流體動力學以產生細霧的霧化器）之氣霧噴灑器或者噴霧器（nebuliser）（使用或不使用合適的推進劑），或作為滴鼻劑。

【0178】 加壓容器，泵，噴灑器，霧化器或噴霧器一般含有本發明之抗體的溶液或懸浮液，包含（例如）適用於活性成分之分散、增溶或延長釋放試劑、作為溶劑之推進劑。

【0179】 在以乾粉末或懸浮液調配物使用之前，一般會使藥物產品微粉化至適用於以吸入遞送的尺寸（典型地小於5微米）。此可藉由合適的粉碎方法來達成，諸如螺旋噴射研磨、流化床噴射研磨、形成奈米顆粒的超臨界流體處理、高壓均質化或噴霧乾燥。

【0180】 可經調配使得用於吸入器或吹入器之膠囊、藥泡（blister）和藥筒（cartridge）含有本發明之化合物、合適的粉末基質和性質修飾劑之粉末混合物。

【0181】 適用於電流體動力學以產生細霧的霧化器使用的溶液調配物，可依致動（actuation）含有合適劑量之本發明的抗體，且致動體積可以例如從1 μ L到100 μ L變化。

【0182】 用於吸入/鼻內投予的調配物可經調配為立即及/或改變釋放的。改變釋放調配物包括延遲釋放、持續釋放、脈衝釋放、控制釋放、靶向釋放和設計釋放。

【0183】 在乾粉末吸入器和氣霧劑的情況下，以遞送經儀表測量的量之

閱來確定劑量單元。根據本發明的單元典型地被配置為投予本發明之抗體之經儀表測量的劑或「噴霧 (puff)」。總每日劑量典型地將以單一劑量投予，或者更常地以整日分別的劑量投予。

【0184】 本發明之抗體和抗體部分也可經調配以用於口服途徑投予。口服投予可能涉及吞嚥，使得化合物進入胃腸道及/或口頰、舌或舌下投予，藉此使化合物直接從口進入血流。

【0185】 適用於口服投予之調配物包括固體、半固體和液體系統，諸如錠劑；含有多或奈米顆粒、液體或粉末的軟或硬膠囊之軟或硬膠囊；糖錠 (lozenge) (包括填充液)；咀嚼物；凝膠；快速分散劑型；薄膜；珠劑 (ovule)；噴灑劑；以及口頰/黏膜貼片。

【0186】 液體調配物包括懸浮液、溶液、糖漿和酏劑。該調配物可用作為軟或硬膠囊 (例如由明膠或羥丙基甲基纖維素製成) 中的填充劑且典型地包含載劑 (例如，水、乙醇、聚乙二醇、丙二醇、甲基纖維素或合適的油) 以及一或多種乳化劑及/或懸浮劑。液體調配物也可藉由固體 (例如從小袋) 的復水來製備。

本發明之抗體和組成物的治療用途

【0187】 在一態樣中，本發明之抗LAG-3抗體和其抗原結合部分、抗LAG-3組成物及雙特異性結合分子係用於增強或活化有需要的人類之免疫系統。在一些具體實例中，患者為免疫壓抑的。例如，醫師可以通過單獨或與其它治療劑 (依序或同時) 組合投予本發明的抗LAG-3抗體來增強患者自身免疫系統的抗癌活性。LAG-3抗體調節免疫細胞中LAG-3的活性，使得抗癌免疫力增強。

【0188】 在某些具體實例中，該抗體或其抗原結合部分、組成物或雙特異性結合分子係用於癌症治療，例如源自諸如以下組織之癌症：皮膚、肺、

腸、結腸、卵巢、腦、前列腺、腎、軟組織、造血系統、頭和頸、肝、膀胱、乳房、胃、子宮和胰臟，以及依賴LAG-3活性的及/或其中患者表現或過度表現LAG-3配體（例如，MHCII、LSECtin或兩者）之任何癌症或其他病狀。

【0189】 在一些具體實例中，藉由本發明之抗LAG-3抗體、抗原結合部分、雙特異性結合分子及/或抗體組成物所治療的癌症可包括（例如）黑色素瘤（例如，晚期或轉移性黑色素瘤）、非小細胞肺癌、頭和頸鱗狀細胞癌、腎細胞癌、霍金氏淋巴瘤（Hodgkin's lymphoma）、非霍金氏淋巴瘤、神經膠質母細胞瘤、神經膠質瘤、鱗狀細胞肺癌、小細胞肺癌、肝細胞癌、膀胱癌、上泌尿道癌、食道癌、胃食道交界部癌、胃癌、肝癌、結腸癌、結直腸癌、多發性骨髓瘤、肉瘤、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、骨髓增生異常症候群、鼻咽癌、慢性淋巴細胞性白血病、急性淋巴母細胞性白血病、小淋巴細胞性淋巴瘤、卵巢癌、胃腸癌，原發性腹膜癌、輸卵管癌，泌尿上皮癌、HTLV相關之T細胞白血病/淋巴瘤、前列腺癌、生殖泌尿癌、腦脊髓膜瘤、腎上腺皮質癌、神經膠肉瘤、纖維肉瘤、腎癌、乳癌、胰臟癌、子宮內膜癌、皮膚基底細胞癌、闌尾癌、膽道癌、唾液腺癌、晚期梅克爾細胞癌（Merkel cell cancer）、瀰漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、間皮瘤或固態腫瘤。癌症可以是（例如）早期、中期、晚期或轉移期的。

【0190】 在一些具體實例中，藉由本發明之抗LAG-3抗體、抗原結合部分、組成物及/或雙特異性結合分子所治療的癌症可包括（例如）血液惡性症、神經膠質母細胞瘤（例如，復發的神經膠質母細胞瘤）、神經膠肉瘤、非小細胞肺癌（例如，晚期的非小細胞肺癌）、結腸直腸癌和固態腫瘤。

【0191】 在一態樣中，本發明之抗LAG-3抗體及其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可用於治療免疫介導之病症，諸如牛皮癬、全身性紅斑性狼瘡、MLS（硬化症）、克羅恩氏病（Crohn's disease）、糖尿病及/或

潰瘍性結腸炎。

【0192】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體及其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可用於治療病毒及/或（例如）其中病原體抑制宿主免疫反應）之寄生蟲感染。例如，該病原體可以是（例如）HIV、肝炎（A、B或C）、人類乳突狀瘤病毒（HPV）、淋巴細胞性脈絡叢腦膜炎病毒（LCMV）、腺病毒、黃病毒、腸道細胞病變性人類孤兒病毒（echovirus）、鼻病毒、柯薩奇病毒、冠狀病毒（coronavirus）、呼吸道融合細胞病毒、腮腺炎病毒、輪狀病毒、麻疹病毒、風疹病毒、小病毒、痘瘡病毒、人類T細胞親淋巴性病毒（HTLV）、登革熱病毒、軟體動物病毒、脊髓灰白質炎病毒、狂犬病病毒、John Cunningham（JC）病毒、蟲媒腦炎病毒、猿類免疫缺乏病毒（SIV）、流感、疱疹、梨形鞭毛蟲屬（*Giardia*）、瘧疾，利什曼原蟲屬（*Leishmania*），金黃色葡萄球菌（*Staphylococcus aureus*）或綠膿桿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）。

【0193】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體及其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可用於治療免疫受損或處於免疫受損之風險的患者（例如，由於化學治療或輻射療法）。

【0194】 在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體及其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可用於活體外抗原特異性T細胞之活化和擴增。

【0195】 「治療（treat）」、「治療（treating）」和「治療（treatment）」係指減輕或消除生物學病症及/或至少一種其伴隨的症狀之方法。如在此所用的，「減輕」疾病、病症或病狀意指降低疾病、病症或病症的症狀之嚴重性及/或發生頻率。此外，本文所指的「治療」包括治療性的、減緩性的和預防性的治療。

【0196】 「治療有效量」係指將被投予治療劑的量，其在一定程度上減輕待治療之病症的一或多個症狀。抗癌治療劑之治療有效量可（例如）導致腫瘤縮小、增加存活、消除癌細胞、減少疾病進展，逆轉轉移或醫護專業人員所想要的其他臨床終點。

【0197】 本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可單獨投予或與一或多種其他藥物或抗體（或其任何組合）組合投予。因此，本發明的醫藥組成物、方法和用途也涵蓋與其他活性劑組合（共同投予）之具體實例，如以下所詳述。

【0198】 如在此所用的，用語「共同投予（co-administration）」、「共同投予（co-administered）」以及「與…組合」係指本發明之抗LAG-3抗體及其抗原結合部分、抗體組成物和雙特異性結合分子與一或多種其他治療劑，意指且確實表示並包括以下內容：

- a) 同時投予本發明之抗體/抗原結合部分/抗體組成物/雙特異性結合分子與治療劑之組合至需要治療的患者，此時該等組分一起被調配至單一劑型，該單一劑型會實際上同時釋放所述組分至所述患者，
- b) 實際上同時投予本發明之抗體/抗原結合部分/抗體組成物/雙特異性結合分子與治療劑之組合至需要治療的患者，此時該等組分被彼此分開調配至分離的劑型，該等劑型實際上同時被所述患者服用，因此所述組分實際上同時被釋放至所述患者，
- c) 依序投予本發明之抗體/抗原結合部分/抗體組成物/雙特異性結合分子與治療劑之組合至需要治療的患者，此時該等組分被彼此分開調配至分離的劑型，該等劑型在連續時間被所述患者服用，每次投予之間有顯著的時間間隔，因此所述組分在實際上不同的時間被釋放至所述患者；以及

- d) 依序投予本發明之抗體/抗原結合部分/抗體組成物/雙特異性結合分子與治療劑之組合至需要治療的患者，此時該等組分一起被調配至單一劑型，該單一劑型以經控制的方式釋放所述組分而使得它們同時地、連續地及/或在相同及/或不同時間下重疊地被釋放至所述患者，其中每個部分可經由相同或不同的途徑投予。

【0199】 本發明之抗LAG-3抗體及其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可在沒有其他治療性處理的情況下投予，即作為獨立療法（stand-alone therapy）（單一療法（monotherapy））。或者，以本發明之抗LAG-3抗體及其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子的治療可包括至少一種其他的治療性處理（組合療法），例如，另一種免疫刺激劑、抗癌劑、抗病毒劑或疫苗（例如，腫瘤疫苗）。

【0200】 在一些具體實例中，該抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可與用於癌症治療之藥品/藥物共同投予或調配。其他治療性處理可包括（例如）化學治療、抗腫瘤治療或抗血管生成劑、不同的抗癌抗體及/或輻射療法。

【0201】 藉由組合本發明之抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子與已知會誘導癌細胞的中止分化之試劑，可進一步改善其功效。該化合物可（例如）選自由以下組成之群：視網酸、反式-視網酸、順式-視網酸、苯基丁酸鹽、神經生長因子、二甲亞碲、活化型維生素D3、過氧化體增生物（peroxisome proliferator）活化受體 γ 、12-O-十四醯基佛波醇13-乙酸酯、六亞甲基-雙-乙醯胺、轉變生長因子- β 、丁酸、環狀AMP和維力司農（vesnarinone）。在一些具體實例中，該化合物係選自由以下組成之群：視網酸、苯基丁酸鹽、全反式視網酸和活化型維生素D。

【0202】 包含本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或

雙特異性結合分子和至少一種其他試劑（例如，化學治療劑、抗腫瘤劑或抗血管生成劑）之醫藥品可作為組合治療，用於癌症療法中的同時、分開或依序投予。其他試劑可為被探討適合用於特定癌症之治療的任何試劑，例如，選自由以下組成之群的試劑：烷基化劑，例如鉑衍生物（諸如順鉑、卡鉑及/或奧沙利鉑（oxaliplatin））；植物生物鹼，例如紫杉醇，多西他賽（docetaxel）及/或伊立替康（irinotecan）；抗腫瘤抗生素，例如阿黴素（阿德里黴素（adriamycin））、道諾黴素、泛艾黴素（epirubicin）、艾達黴素（idarubicin）米托蒽醌（mitoxantrone）、dactinomycin、博萊黴素、放線菌素、黃黴素（luteomycin）及/或絲裂黴素；拓撲異構酶抑制劑，諸如托普樂肯（topotecan）；及/或抗代謝物，例如氟尿嘧啶及/或其他氟嘧啶。在一些具體實例中，其他試劑為達卡巴嗪（dacarbazine）或吉西他濱（gemcitabine）。

【0203】 本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子也可用於與其他抗癌療法組合，諸如疫苗、細胞介素、酶抑制劑、免疫刺激化合物和T細胞療法。在疫苗的情況下，其可為（例如）含有一或多種與待治療的癌症相關之抗原的蛋白質、胜肽或DNA疫苗，或包含樹突細胞以及抗原的疫苗。適合的細胞介素包括（例如）IL-2、IFN- γ 和GM-CSF。具有抗癌活性之酶抑制劑的類型之實例為吡嗪胺-2,3-雙加氧酶（IDO）抑制劑，例如1-甲基-D-色胺酸（1-D-MT）。可採用的T細胞療法係指涉及擴大或建立患者自身的T細胞以識別和攻擊其腫瘤的各種免疫療法之技術。

【0204】 也預期本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可用於與酪胺酸激酶抑制劑相關的輔助療法。此等為合成的（主要是喹唑啉衍生的）低分子量分子，其與受體的細胞內酪胺酸激酶域相互作用並藉由競爭細胞內Mg-ATP結合位點來抑制配體誘導的受體磷酸化。

【0205】 在一些具體實例中，該抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或

雙特異性結合分子可用於與介導免疫系統活化的另一種藥品/藥物組合使用，包括（但不限於）調控以下者之表現或活性的試劑：A2AR、BTLA、B7-H3、B7-H4、CTLA-4、CD27、CD28、CD40、CD47、CD55、CD73、CD122、CD137、CD160、CGEN-15049、CHK1、CHK2、CTLA-3、CEACAM（例如，CEACAM-1及/或CEACAM-5）、GAL9、GITR、HVEM、LY108、LAIR1、ICOS、IDO、KIR、LAIR1、PD-1/PD-L1/PD-L2、OX40、TIGIT、TIM-3、TGFR- β 、VISTA、LILRB2、CMTM6及/或2B4。在某些具體實例中，該試劑為結合至上述分子之一的抗體或其抗原結合片段。也預期本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可用於與以下者組合使用：細胞介素（例如，IL-1、IL-2、IL-12、IL-15或IL-21）、EGFR抑制劑、VEGF抑制劑等。

【0206】 在某些態樣中，本發明之抗體及抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可與LAG-3途徑的另一種抑制劑組合來投予，該抑制劑可靶向LAG-3或者一或多種其配體。該抑制劑的實例包括其他抗LAG-3抗體、抗MHCII 抗體、抗半乳糖凝集素-3抗體和抗LSECtin 抗體。在一些具體實例中，本發明之抗LAG-3抗體或其抗原結合部分、雙特異性抗體或抗體組成物可與BMS-986016、GSK2831781、REGN3767、BAP050或BAP050-chi或LAG525組合來投予。

【0207】 可理解，本發明之抗體及其抗原結合部分、抗體組成物和雙特異性結合分子可用於本文所述的治療之方法、可用於本文所述的治療之用途及/或可用於製造用於本文所述的治療之醫藥品。本發明亦提供製造的套組和物品，其包含本文所述的抗體及其抗原結合部分、抗體組成物和雙特異性結合分子。

投予之劑量和途徑

【0208】 本發明之抗體或其抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子將以用於治療所探討的病狀之有效量（即達成所欲結果需要的劑量和時間週期）來投予。治療有效量可根據諸如以下的因素而改變：待治療的特定病狀、患者之年齡、性別和體重、以及抗體是否作為獨立治療投予或與一或多種其他的抗癌症治療組合。

【0209】 可調整給藥方案以提供最佳之所欲的反應。例如，可以單次推注（single bolus）、可隨著時間投予數個分別劑量或可依治療情況的緊急程度成比例地減少或增加劑量。以易於投予和一致性的劑量的劑量單位形式來調配非經腸的組成物是特別有利的。如在此所用的，劑量單位形式係指適合作為用於待治療患者/個體的單位劑量之物理上分離的單位；各單位含有預定量的活性化合物，其經計算以與所需的醫藥載劑產生所需的治療效果。本發明之單位劑量形式的詳細說明一般由以下者規定且直接取決於以下者：（a）化學治療劑的獨特性質和要達成的特定治療或預防功效，以及（b）對於個體的治療敏感性，配製活性化合物領域中固有的限制。

【0210】 因此，發明所屬技術領域中具有通常知識者會認同，基於本文之揭示，可依據治療領域中熟知的方法來調整劑量和給藥方案。即，可很容易地確立最大耐受劑量，並且也可確定向患者提供可測得的治療益處之有效劑量，以及投予每種試劑以向患者提供可測得的治療益處之時間要求。因此，雖然在此例示某些劑量和投予方案，這些實例完全沒有限制實施本發明時可提供患者的劑量和投予方案。

【0211】 需注意到，劑量值可隨待緩解的病症之類型和嚴重度而改變，且可包括單一或多個劑量。應進一步理解，對於任何特別個體，特定給藥方案應隨時根據個體需要和投予或督導組成物之投予的人員之專業判斷做調整，以及在此提供的劑量範圍僅為例示性的且不意謂限制所體現組成物之範圍和實

施。再者，此發明組成物的給藥方案可基於各種因素，包括疾病類型、患者的年齡、重量、性別、醫療狀況、病況的嚴重度、投予途徑和所用的特定抗體。因此，雖然給藥方案可大幅地變化，但可使用標準方法來常規地決定。例如，可基於藥物動力學或藥效學參數（其可包括臨床功效，諸如毒性效應及/或實驗室值）來調整劑量。因此，本發明包含如發明所屬技術領域中具有通常知識者可確定的患者內劑量遞增。確定適合的劑量和方案是相關技術領域中所熟知的，且會被理解為，一旦提供在此揭示之教示，可由發明所屬技術領域中具有通常知識者所完成。

【0212】 預期本發明之抗體、抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子的合適劑量會在0.1-100 mg/kg的範圍，諸如約0.5-50 mg/kg（例如，約1-20 mg/kg）。例如，該抗體、抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子可用以下劑量投予：至少0.25 mg/kg，例如至少0.5 mg/kg、諸如至少1 mg/kg、例如至少1.5 mg/kg、諸如至少2 mg/kg、例如至少3 mg/kg、諸如至少4 mg/kg、例如至少5 mg/kg；以及例如至多50 mg/kg，諸如至多30 mg/kg、例如至多20 mg/kg、諸如至多15 mg/kg。通常在合適的時間間隔重複投予，例如每週一次、每兩週一次、每三週一次或每四週一次，並且只要負責醫師認為是合適的，其可視情況地根據需要來增加或減少劑量。

【0213】 用於腫瘤療法的有效量可由其穩定疾病進展及/或改善患者之症狀的能力來測量，且較佳為（例如）藉由減少腫瘤大小逆轉疾病進展。本發明之抗體、抗原結合部分、抗體組成物或雙特異性結合分子的抑制癌症的能力可由以下方式來評估：（例如）實施例所述之試管內分析，以及在可預測人類腫瘤之效應的合適動物模型中。將選擇適合的給藥方案，以提供在每一特定情況下的最佳治療反應，例如，以單次推注或作為連續灌注投予，且依每一案件的緊急程度所示作可能的劑量調整。

診斷用途和組成物

【0214】 本發明之抗體也可用於診斷方法（例如，試管內、活體外）。例如，該抗體可用於偵測及/或測量來自患者之樣品（例如，組織樣品，或體液樣品，諸如發炎性分泌物、血液、血清、腸液、唾液或尿液）的LAG-3之水平。適合的偵測和測量方法包括免疫學方法，諸如流式細胞測量術、酵素結合免疫吸附分析（ELISA）、化學發光分析、放射免疫分析以及免疫組織學。本發明進一步包括包含在此所述之抗體的套組（例如，診斷套組）。

【0215】 除非本文另有定義，否則所用之與本發明相關的科學和技術用語應具有發明所屬技術領域中具有通常知識者一般理解的意義。以下描述例示性之方法和材料，儘管與本文所述相似或相當的方法和材料也可以用於實施或測試本發明。如有矛盾的情況，則以本案說明書（包括定義）為準。

【0216】 一般而言，本文所述之與細胞和組織培育、分子生物學、免疫學、微生物學、遺傳學、分析化學、合成有機化學、藥物和醫藥化學以及蛋白質與核酸化學和雜交有關的命名和技術為技術領域中所熟知且常用者。酶反應和純化技術係根據製造商的說明書進行，如同技術領域中通常完成者或如本文所述者。

【0217】 此外，除非本文另有要求，否則單數的用語應包括複數者且複數用語應包括單數者。在整個此說明書和具體實例中，用詞「具有（have）」和「包含（comprise）」或諸如「具有（has）」、「具有（having）」、「包含（comprises）」或「包含（comprising）」的變化將被理解為，暗示包括所述的整體或者整體之群，但不排除任何其他整體或整體之群。

【0218】 在此提及的所有刊物和其他參考文件以其全部內容作為參考文獻的方式併入本文。雖然本文引用的許多文件，此引用並非承認這些文件形成技術領域之通常知識的一部分。

【0219】 為了更佳理解本發明，提供以下實施例。這些實施例僅用於說明之目的，而不應被視為以任何方式限制本發明之範圍。

實施例

實施例1:抗LAG-3抗體全套 (antibody repertoire) 的產生和篩選

【0220】 藉由以LAG-3細胞外域 (ECD) 或LAG-3 ECD Fc 融合蛋白進行的免疫化反應來產生兩種抗LAG-3抗體全套。使用Symplex™抗體發現技術 (Osborn等人, *J Immunol.* **190** (4): 1481-90 (2013) ; Meijer等人, *J Mol Biol.* **358** (3): 764-72 (2006)) , 從免疫化的OmniRat®大鼠之單細胞經分類的B細胞來製備一種抗體庫 (antibody library) 。來自此抗體全套的表現構築體 (construct) 編碼IgG₁形式的完全人免疫球蛋白, 其帶有已知會降低IgG₁抗體的Fc區之效應功能的兩個突變 (L234A/L235A) (Hezareh等人, *J Virol.* **75** (24):12161-8 (2001)) 。使用源自免疫的野生型雞 (原雞, *Gallus gallus*) 的淋巴器官的單細胞經分類的B細胞構建第二抗體全套。

【0221】 使用在384孔式中的293fectin™轉染試劑 (Invitrogen, 目錄編號12347-019) , 將來自兩種抗LAG-3全套之選殖的抗體分別地轉染且在HEK293細胞中表現, 並在轉染後第6天收集含有抗體的上清液。

【0222】 關於基於細胞之抗體篩選, 使用FreeStyle™ MAX試劑 (Invitrogen, 目錄編號16447-100) 在384孔式中轉染CHO-S細胞, 以表現GPI錨定的人類LAG-3, 並且使用經不相關的、GPI錨定的控制蛋白轉染之細胞作為負對照組。為了允許多重篩選設置, 使用羧基螢光素琥珀鹽亞胺酯 (CFSE) 來標記對照細胞, 並將其與未標記之經LAG-3轉染的細胞以1:1的比例和 1×10^6 個細胞/mL的密度混合。在384孔盤中, 將40 μ L之此細胞混合物與10 μ L之含有抗體的上清液混合, 並藉由添加山羊之抗人類IgG (H+L) AF647二級抗體

(Molecular Probes, 目錄編號A21445) 來顯示與細胞結合的抗體。並行地, 以相似的設置, 針對與食蟹獼猴LAG-3的結合來篩選抗體。使用高通量流式細胞測量術(iQue® Screener, Intellicyt) 來獲得樣品, 並使用ForeCyt®軟體藉由繪製CFSE vs. 人類IgG結合(AF647) 來分析數據。將結合至人類和食蟹獼猴兩者之LAG-3-轉染的細胞(CSFE陰性) 但不結合至對照細胞(CFSE陽性) 之抗體植株作為LAG-3特異性主要靶點(hit), 並收集盤編號和盤座標以供靶點挑選和隨後序列分析。

【0223】 於以下序列表的章節中, 提供六種源自OmniRat®的功能性之抗LAG-3抗體(15646、15532、15723、15595、15431和15572) 之重和輕鏈可變區的DNA和蛋白質序列與一種源自雞的功能性之抗LAG-3抗體(15011; 參見實施例2)。表8和9中提供可變和恆定區DNA和蛋白質序列的SEQ ID編號的總覽。CDR之SEQ ID編號可見於表9。根據CDR1和CDR2之IMGT®的定義來決定CDR序列。對於重和輕鏈CDR3, 本文之定義包括一個額外的IMGT-CDR3之上游胺基酸殘基(Cys) 和一個額外的下游胺基酸殘基(對於H-CDR3為Trp, 對於L-CDR3為Phe)。表10中顯示了六種源自OmniRat®的抗體之生殖細胞系基因的使用。

實施例2: 源自雞之抗LAG-3抗體的人類化

【0224】 進行源自雞之抗LAG-3抗體的架構區之人類化, 以產生當投予至人類時具有最小免疫原性, 同時基本上保留了親代雞抗體之特異性和親和力的抗體分子。

【0225】 使用「CDR移植」方式(最初由Jones等人所描述之方法(*Nature* **321** (6069):522-5 (1986))) 來進行源自雞之抗體的人類化。首先, 針對人類IgG資料庫進行抗體之可變重鏈(VH) 和可變輕鏈(VL) 區域的序列比對, 以找出最接近的人類生殖細胞系基因。此鑑定出IGHV3-23*01

(M99660) 和人類IGLV3-19*01 (X56178) 基因，分別為最接近雞的VH和VL基因者。同樣地，對於J-基因區域人類化所選的人類胺基酸序列係源自分別針對VH和VL之IGHJ1*01 (J00256) 和IGLJ6*01 (M18338)。隨後將該抗體VH和VL基因與雞免疫球蛋白生殖細胞系基因比對，以鑑定在抗體功能及/或結構中扮演的角色之架構區中的體細胞突變。最後，考慮以已知在抗體結構、穩定性和功能上扮演重要角色的某些胺基酸位置（所謂的「游標殘基 (Vernier residue)」 (Nishibori等人，*Mol Immunol.* 43 (6) : 634-42 (2006))，用於產生替代的人類化抗體變異體，該變異體包括來自對應生殖細胞系之人類或雞的殘基。

【0226】 藉由電腦模擬來進行雞之CDR和人類架構區的組裝，並從Genscript Inc.訂購編碼人類化VH和VL之合成基因。在帶有人類抗體輕鏈和重鏈之恆定區的表現載體（質體）中選殖VH和VL基因。具體言之，將VL加入人類λ恆定IGLC1*01 (J00252)。為了增加λ鏈上游訊息勝肽的正確切割，將λ基因IGLV3.19的第二個胺基酸（Ser）置換為存在於其他人類生殖細胞系（例如IGLV3.25）的另一胺基酸（Tyr）。

【0227】 此實施例所述產生的抗體殖株之代表性流式細胞測量術點陣圖係顯示於圖1A-C：（A）與人類LAG-3轉染的細胞特異性結合之抗體殖株，（B）非特異性地結合至CHO-S細胞之抗體殖株，（C）不與任何篩選中使用的細胞群結合之抗體殖株。

實施例3:抗LAG-3參考抗體類似物之選殖

【0228】 分別從U.S.專利申請公開號2014/0093511 (SEQ ID NO: 12 和 14) 以及PCT專利申請公開號WO 2015/138920 A1 (SEQ ID NO: 6和16) 獲得編碼25F7-Lag3.5和BAP050之抗體類似物的重和輕鏈可變域之胺基酸序列。以人類密碼子方法將蛋白質序列反轉譯為DNA序列。然後合成對應的DNA序列並將

其選殖至包含人類IgG₄重鏈或 κ 輕鏈恆定域的編碼序列之表現載體，以表現全長抗體。為了防止Fab臂交換，以脯胺酸來取代在位置228的絲胺酸殘基（Angal等人，*Mol. Immunol.* **30**:105-108（1993））。使用標準蛋白質表現系統，以所產生的表現質體來轉染CHO細胞。使用標準蛋白A純化管柱層析來純化對應的抗體上清液。

實施例4: 在SEB+PBMC分析中篩選LAG-3特異性mAb之群組

【0229】 使用來自單一供體的PBMC，來評估大群組的LAG-3特異性mAb之刺激經葡萄球菌腸毒素B（SEB）處理的周圍血液單核細胞（PBMC）之IL-2分泌的能力。SEB為超級抗原，其結合至第II型MHC分子和T細胞受體（TCR）的特定V β 區域並驅使T細胞的非特異性刺激。此導致多株T細胞活化/增生及細胞介素（包括IL-2）的釋放。將來自健康供體的膚色血球層分離的人類PBMC接種至384孔盤中，並且使其保留為未經處理的或用10 ng/mL SEB和10 μ g/mL的抗體處理。在潮濕的培養箱中於37°C下培育48小時後，移出上清液並使用IL-2 ELISA套組（Life Technologies）來分析IL-2水平。

【0230】 從圖2可發現，在以抗LAG-3 mAb抗體全套或25F7-Lag3.5類似物處理後IL-2分泌增加。顯然地，以不同的抗LAG-3 mAb處理後的IL-2水平有大幅的變化，顯示雖然抗體全套中的一些抗體在此分析中沒有功能性，但其他抗體誘使IL-2分泌至與25F7-Lag3.5類似物相似的水平。

實施例5: 結合至細胞表現的人類或食蟹獼猴LAG-3之抗體

【0231】 為了藉由流式細胞測量術來測定抗體之結合的EC₅₀值，使用FreeStyle™ MAX試劑（Invitrogen，目錄編號16447-100）將CHO-S細胞瞬時轉染以表現人類或食蟹獼猴LAG-3。在染色緩衝液（PBS；2% FBS；NaN₃）中從10至0.05 μ g/mL濃度滴定抗體至3倍稀釋且將其與人類或食蟹獼猴LAG-3轉染的細胞混合並培育。在染色緩衝液中洗滌兩次後，藉由添加山羊之抗人類 IgG

(H+L) AF647二級抗體 (Molecular Probes，目錄編號A21445) 來顯示細胞結合的抗體。使用高通量流式細胞測量術 (iQue® Screener，Intellicyt) 來獲得樣品並藉由使用ForeCyt®軟體繪製AF647之抗體濃度 vs. 平均螢光強度來分析數據。使用ForeCyt®中的「劑量反應圖」功能來計算EC50值。

【0232】 藉由滴定測量的抗體結合特性的概述可見於以下表1，其中 huLAG-3 和cyLAG-3分別為人類和食蟹獼猴LAG-3轉染的細胞。如表1所示，抗體15646、15532、15723、15595、15431和15572結合至人類和食蟹獼猴LAG-3兩者。

表1. 抗體特性總覽

抗體	來源	FACS-huLAG-3 之 EC50 (nM)	FACS-cyLAG-3 之 EC50 (nM)
15646	OmniRat®	0.10	0.11
15532	OmniRat®	0.07	0.05
15723	OmniRat®	0.09	0.26
15595	OmniRat®	0.05	0.03
15431	OmniRat®	0.04	0.04
15572	OmniRat®	0.07	0.06
15011	雞	NA	NA

實施例6:抗LAG-3抗體之MHCII阻斷活性的流式細胞術分析

【0233】 此實施例說明，如何藉由使用表面MHCII陽性A375細胞和螢光染料標記的可溶性LAG-3進行流式細胞術競爭分析，來測試抗LAG-3抗體之主要組織相容性錯合體II (major histocompatibility complex II，MHCII) 的阻斷活性。

【0234】 在使用人類黑素瘤細胞系A375 (ATCC® CRL-1619™) 之基於細胞的分析中探討MHCII阻斷活性。R-PE-標記的人類LAG-3-Fc嵌合蛋白可特異性地結合至A375上的表面表現之MHCII，使得此相互作用可藉由流式細胞測量術

來定量。使用Lightning-Link® R-藻紅素共軛套組（Innova Biosciences，UK）將市售的重組人類LAG-3-Fc嵌合蛋白（R&D Systems，USA）與R-PE共軛。使用無酶細胞溶解緩衝液（Gibco™）將A375細胞收集、洗滌並在使其在冷的染色緩衝液（PBS，2% FBS，NaN₃）中再懸浮。將待測試的抗LAG-3抗體裝載於96孔式盤並在50 μL染色緩衝液中將其調至20 μg/mL。每個孔加入1 μL的LAG-3-Fc-PE（對應於約0.17 μg的LAG-3-Fc）、混合並將盤在4°C下培育30分鐘，以使得LAG-3-抗體錯合物形成。在培育期間，將1x10⁵個A375細胞（於100 μL染色緩衝液中）置於96孔式盤，藉由離心使其沉澱，並使細胞沉澱物重新懸浮於預培育的LAG-3/抗體混合物中。將細胞在4°C下再培育20分鐘，在200 μL冷的染色緩衝液中洗滌1次，並使其於100 μL染色緩衝液中重新懸浮以利收集。

【0235】 在七種經測試的抗LAG-3抗體中（在20 μg/mL下），有四種（15532、15595、15431和15011）誘使結合至MHCII（MFI）的LAG-3相較於陰性對照抗體存在下結合減少約90%，剩餘的三種抗體（15646、15723和15572）對於LAG-3-MHCII的結合僅具有有限的影響且可被視為不良的阻斷劑。參考抗體25F7-Lag3.5類似物顯示中等的阻斷活性。結果概括於表2中。

表2. 在抗LAG-3抗體存在下對LAG-3結合至A375上的MHCII的阻斷

抗體	LAG-3/MHCII 阻斷（%）*
15646	49
15532	89
15723	55
15595	94
15431	92
15572	37
15011	92
25F7-Lag3.5 類似物	77

*以在負對照組抗體存在下的LAG-3結合正規化的中間值

實施例7: 在SEB+PBMC分析中抗LAG-3 單株抗體的功效

【0236】 評估七種抗LAG-3 mAb之刺激經葡萄球菌腸毒素B (SEB) 處理的周圍血液單核細胞 (PBMC) 之IL-2分泌的能力。此實施例描述在數個PBMC供體中之七種抗LAG-3 mAb的功效。此外，描述了來自其他序列叢集 (cluster) 之四種抗LAG-3 mAb的功效。序列叢集編號係顯示在該抗體編號後的括號中且在實施例13中進一步描述。如實施例4所述，在SEB+PBMC分析中於10 或12.5 $\mu\text{g/ml}$ 下測試抗LAG-3抗體。

【0237】 圖3顯示在以抗LAG-3 mAb 15431、15532、15572、15595、15646、15723和15011或25F7-Lag3.5類似物處理後IL-2分泌增加。每個點表示來自單一PBMC供體之IL-2分泌的水平。顯然，在以抗LAG-3 mAb處理後的IL-2水平在不同的PBMC供體之間有所不同，但全部七種抗LAG-3 mAb刺激IL-2的產生至相似的水平。此與抗LAG-3 mAb 15445、15429和15491 (其未增加IL-2的產生) 形成對比。

實施例8: 在基於細胞之LAG-3-第II類MHC阻斷分析中抗LAG-3單株抗體的功效

【0238】 為了進一步描述該七種抗LAG-3 mAb之特性，在基於細胞的分析中測試其阻斷LAG-3-第II類MHC相互作用的能力。

【0239】 以表現第二型MHC之Raji 細胞系、50 ng/mL葡萄球菌腸毒素D (SED) 和如圖4所示之不同濃度的單株抗體來培育帶有NFAT-RE-控制之螢光素酶基因且表現修飾的TCR和LAG-3 (Promega) 之Jurkat細胞。在37°C潮濕的培養箱中6小時後，加入螢光素酶基質 (Promega) 並測量發光。發光為螢光素酶表現的量測，其受TCR信號傳遞所控制且受LAG-3信號傳遞所抑制。因此，較少的LAG-3信號傳遞 (例如，藉由阻斷LAG-3-MHCII相互作用) 會使得發光增加。

【0240】 圖4顯示在以抗LAG-3 mAb 15431、15532、15572、15595、

15646、1572和15011或25F7-Lag3.5類似物處理後的發光增加。發現所有測試的抗體皆增加發光至相似的水平。

實施例9: 抗LAG-3單株抗體對細胞之LAG-3的水平之功效

【0241】 為了進一步描述所選擇的抗LAG-3 mAb之特性，測試其在過度表現LAG-3的T-細胞系中下調LAG-3水平的能力。

【0242】 以25 mg/mL的如圖5所示之單株抗體來培育表現修飾的TCR和LAG-3（Promega）之Jurkat細胞。在37°C 潮濕的培養箱中24小時後，收集上清液並使細胞溶解。以抗LAG-3偵測抗體（Novus Biologicals）和simple Western 技術（Sally Sue，Proteinsimple）來評估細胞中LAG-3的水平。使用抗LAG-3 ELISA（R&D Systems）來評估上清液中LAG-3的水平。結合競爭研究確認了，所測試的抗LAG-3抗體不會與ELISA偵測抗體競爭對可溶性LAG-3的結合。使用單因子（one-way）ANOVA來進行統計分析，伴隨校正以進行多重比較，然後進行Bonferroni校正的事後比較t測試（post hoc t-test）。

【0243】 圖5顯示在以抗LAG-3 mAb 15431、15532、15011、25F7-Lag3.5類似物或BAP050類似物處理後之細胞的和可溶性LAG-3的水平。15532、15011、25F7-Lag3.5類似物和BAP050類似物降低細胞以及可溶性LAG-3的水平。15532統計學顯著地降低細胞的LAG-3水平至相較於25F7-Lag3.5類似物較低的水平，且統計學顯著地降低可溶性LAG-3水平至相較於25F7-Lag3.5類似物和BAP050類似物較低的水平。15431沒有降低細胞的或可溶性LAG-3水平。

實施例10: 在兩種同系小鼠腫瘤模型中的抗體15011之活體內功效

【0244】 此實施例證實了在兩種同系小鼠腫瘤模型中的抗體15011之活體內功效。

方法

【0245】 將 2×10^5 Sa1N（纖維肉瘤）和 5×10^6 ASB-XIV（肺癌）細胞皮下

接種至6-8週齡雌性A/J (Sa1N) 或BALB/cAnNRj (ASB-XIV) 小鼠的脅腹中。藉由卡尺以二維方式每週測量腫瘤三次，並且根據以下公式計算以 mm^3 計的腫瘤體積： $(\text{寬度})^2 \times \text{長度} \times 0.5$ 。在接種後第5-7天，平均腫瘤大小為30-50 mm^3 ，將小鼠隨機分為兩組，每組十隻動物，並開始治療。藉由腹膜內注射媒劑緩衝液或單株抗體15011，每週治療小鼠三次，共六次治療，隨後進入觀察期。抗體治療投予劑量為10 mg/kg。應用Bonferroni多重比較測試之雙因子 (two-way) ANOVA，來比較治療組之間在各時間點的腫瘤體積。使用GraphPad Prism 5.0版 (GraphPad Software, Inc.) 來進行統計分析。

結果

【0246】 結果顯示，在測試的同系腫瘤模型中抗體15011之顯著的腫瘤抑制功效 (* $P < 0.001$) (圖6)。15011誘使50%的植入Sa1N腫瘤之小鼠的腫瘤生長退化並導致在ASB-XIV同系腫瘤模型中腫瘤生長延遲。

實施例11: 在人類PBMC重建並植入人類 黑色素瘤A375細胞之NOG小鼠中的抗體15532之活體內功效

【0247】 此實施例證實了在半人類化異種移植腫瘤模型中的抗體15532之活體內功效，其中以人類PBMC和植入人類黑色素瘤A375細胞的小鼠重建NOG小鼠的免疫系統。

方法

【0248】 在研究第0天，將 $2-4.5 \times 10^6$ A375黑色素瘤細胞皮下注射至NOG小鼠，並在研究第2天經由腹膜內的方式使其接受9或 12×10^6 PBMC。在每一實驗中使用來自一種供體的PBMC。在PBMC接種的那天開始治療，並藉由腹膜內注射媒劑緩衝液或單株抗體15532 (10 mg/kg)，每週治療小鼠三次，共六次或九次治療，隨後進入觀察期。藉由卡尺以二維方式每週測量腫瘤三次，並且根據以下公式計算以 mm^3 計的腫瘤體積： $(\text{寬度})^2 \times \text{長度} \times 0.5$ 。應用

Bonferroni多重比較測試之雙因子ANOVA，來比較治療組之間在每個時間點的腫瘤體積。使用GraphPad Prism 5.0版（GraphPad Software, Inc.）來

結果

【0249】 圖7顯示使用對於抗LAG-3治療有反應之兩種不同的人類PBMC供體的兩個實驗之結果。以15532之治療導致相較於媒劑治療組之顯著腫瘤生長延遲[P<0.05（供體1）及P<0.001（供體2）]。

實施例12:抗LAG-3單株抗體對於人類、食蟹獼猴和小鼠LAG-3之親和力的測量

【0250】 此實施例以表面電漿共振（SPR）來測量證實了抗LAG-3抗體對於人類、食蟹獼猴和小鼠LAG-3細胞外域的結合。人類LAG-3的蛋白質序列可從UniProt登錄號P18627（SEQ ID NO: 68）獲得。食蟹獼猴LAG-3的蛋白質序列可從NCBI登錄號XP_005570011.1（SEQ ID NO: 69）獲得。小鼠LAG-3的蛋白質序列可從UniProt登錄號Q61790（SEQ ID NO: 72）獲得。

材料和方法

【0251】 使用與IBIS MX96 SPR儀器（IBIS Technologies，荷蘭）組合的連續流微點樣器（Continuous Flow Microspotter）（CFM，Wasatch Microfluidics，鹽湖城，US），藉由表面電漿共振（SPR）進行動力學結合分析。

【0252】 使用由Genovis（瑞典）提供的套組，藉由GingisKHAN酶消化IgG₁抗體來產生抗LAG-3 Fab抗體。

【0253】 合成編碼人類和食蟹獼猴LAG-3的細胞外域之LAG-3 cDNA，且將其各者選殖至含有CMV啟動子和人類IgG₁ Fc序列（AA P101-K330）之載體，使得IgG₁ Fc C端融合至選殖的LAG-3 ECD。藉由標準PCR和工程技術產生LAG-3 Fc 融合構築體，並使用ExpiCHO™表現系統在2 mL培養物中瞬時表現蛋白質。在9天後收集人類LAG-3 Fc融合構築體，藉由SPR測試上清液對於

LAG-3 Fab抗體的結合親和力。使用標準程序來純化抗原，並使用連續流微點樣器（CFM，Wasatch Microfluidics，鹽湖城，US）將其捕獲至G-a-hu-IgG Fc SensEye®（Ssens BV，荷蘭）上15分鐘。在點樣後，將SensEye®置於IBIS MX96生物感應器中並阻斷剩餘的捕獲位點。應用所謂的動力學滴定系列（Karlsson R. 2006）進行動力學分析，其中以1 nM至1000 nM的遞增濃度來注射本發明抗體之單體Fab片段，在每次Fab注射後不應用表面再生步驟。進行Fab結合15分鐘並進行抗原解離15分鐘。將所記錄的結合反應擬合至simple Langmuir 1:1結合模型，以Scrubber 2軟體計算結合速率（kon或ka）、解離速率（koff或kd）和親和力（ K_D ）常數。

結果

【0254】 親和力測量的結果證實，評估的抗體15532、15431、15572、15011和參考抗體類似物25F7-Lag3.5以不同的親和力結合至人類和食蟹獼猴LAG-3。15011是唯一與小鼠LAG-3有交叉反應性之抗體。詳細的結合動力學列於以下表3中。

表3. 以SPR測量之抗LAG-3 Fab片段對於人類、食蟹獼猴和小鼠LAG-3 ECD的結合動力學

抗體	LAG-3 ECD	k_{on} (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_{off} (s ⁻¹)	K_D (M)
15532	人類	1.1E+05	6.5E-04	5.8E-09
15532	食蟹獼猴	7.1E+04	4.8E-03	6.8E-08
15532	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
15431	人類	6.6E+04	2.0E-03	3.0E-08
15431	食蟹獼猴	5.9E+04	6.8E-03	1.2E-07
15431	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
15572	人類	1.1E+05	3.0E-03	2.7E-08
15572	食蟹獼猴	4.0E+04	4.0E-03	1.0E-07
15572	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.
15011	人類	1.1E+05	4.8E-04	4.3E-09
15011	食蟹獼猴	7.0E+04	2.5E-03	3.5E-08
15011	小鼠	7.2E+04	2.3E-03	3.3E-08
25F7-Lag3.5	人類	1.4E+05	1.2E-03	8.5E-09
25F7-Lag3.5	食蟹獼猴	4.2E+03	3.8E-03	9.1E-07
25F7-Lag3.5	小鼠	N.B.	N.B.	N.B.

*NB: 未結合

實施例13:抗LAG-3抗體之表位分倉 (binning)

【0255】 此實施例說明，如何基於夾層分析 (sandwich assay) 中的配對競爭模式將抗LAG-3抗體分組至表位倉 (epitope bin)。屬於不同表位倉的抗體辨識在LAG-3 ECD上的不同表位。

材料和方法

【0256】 使用與IBIS MX96 SPR儀器 (IBIS Technologies, 荷蘭) 組合的連續流微點樣器 (CFM) (Wasatch Microfluidics, US)，藉由表面電漿共振

(SPR) 分析來進行配對抗體競爭的探討。在山羊之抗人類-IgG Fc SensEye® SPR感應器 (Ssens BV, 荷蘭) 上進行表面電漿共振影像分析。將總共十三種抗LAG-3抗體 (包括參考抗體25F7-Lag3.5) 在含有0.05% Tween 20、pH 7的PBS緩衝液 (PBS-T) 中稀釋至7.5 µg/mL。使用連續流微點樣器, 藉由點樣將抗體捕獲至抗Fc感應器表面15分鐘。點樣後, 將SensEye®置於IBIS MX96生物感應器中, 並藉由注射30µg/mL非特異性之人類IgG₁來阻斷剩餘的抗Fc位點。使用FixIt套組 (Ssens BV, 荷蘭) 將捕獲的抗體結合至表面。在感應器製備後, 當溶液注射至感應器上時, 使用固定化的抗體 (配體) 來捕獲溶液中的單價LAG-3抗原 (50 nM, Acro Biosystems, 中國)。接著, 將LAG-3抗體群組 (於PBS-T緩衝液中稀釋至15 µg/mL) 作為分析物逐一注射至感應器上並測試對於夾層分析中之捕獲的LAG-3的結合, 以確立抗體競爭模式。在每次抗體注射後, 以100 mM之pH 3.0的H₃PO₄緩衝液使感應器表面再生。

結果

【0257】 圖8呈現十三種抗LAG-3抗體的競爭模式。抗體係根據其ID編號命名而叢集群係列於括號中。預期來自相同叢集群的mAb可結合至相同的表位倉, 因為來自相同叢集群成員的蛋白質序列係高度相關的且僅在少數位置上有差異。

【0258】 成功地將所有抗體進行表位分組; 然而, 抗體15595 (52)、15613 (33) 和15431 (38) 於用作為配體時沒有作用, 而只能作為分析物進行測試。將抗體15646 (15) 和15011 (94) 僅作為配體來測試。

【0259】 競爭分析指出, LAG-3抗體群組涵蓋6個主要的表位倉 (圖8)。抗體15011 (94) 結合至獨特的表位, 該表位沒有被該群組中的任何其他抗體交叉阻斷, 而因此將此抗體分配為表位倉1。表位倉2含有七種抗體, 該等抗體與一些來自該群組中的其他mAb交叉競爭, 且該等抗體進一步分成次群

組。當作為配體或分析物測試時，mAb 15584 (54) 的特徵在於交叉阻斷15532 (17) 和15595 (52) 兩者，但作為分析物測試時，其沒有被參考mAb 25F7-Lag3.5阻斷。mAb 15613 (33) 作為分析物測試且顯示被15723 (39)、15532 (17) 和15646 (15) 阻斷，但沒有被25F7-Lag3.5阻斷。因此，雖然15532 (17) 結合至與25F7-Lag3.5重疊的表位，但由於與15584 (54) 和15613 (33) 競爭的差異，15532 (17) 之表位與25F7-Lag3.5之表位不同，且因此將這些抗體分配為不同的次群組。同樣地，基於與表位倉2中其他抗體的競爭模式，將表位倉2中的其他mAb分配為次群組（圖8）。

【0260】 發現mAb 15572 (91) 只會與mAb 15584 (54) 交叉競爭而將其分配為個別的表位倉3。同樣地，將mAb 15431 (83) 分配為個別的表位倉4，因為此抗體只與mAb 15723 (39) 交叉競爭。最後，鑑定含有非功能性活性之抗體的兩個個別的表位倉。表位倉5含有交叉阻斷的抗體15445 (70) 和15491 (84)，而表位倉6含有mAb 15429 (72)，其沒有交叉阻斷該群組中的任何抗體。表位倉5之抗體亦阻斷當作為分析物測試時的表位倉2之抗體 25F7-Lag3.5、15532 (17) 和15723 (39)（圖8）。圖9顯示配體抗體之競爭模式的概述，其中基於使用歐幾里德距離的叢集群來顯示mAb的表位相關性。從叢集群圖可觀察到，在高於零點x軸值處具有分支點的抗體相較於測試的LAG-3群組中之其他抗體具有不同的表位。該叢集分析不包含mAb 15595 (52)、15613 (33) 和15431 (38)，因為其作為配體沒有作用。

實施例14: 藉由LAG-3 突變誘導來進行LAG-3抗體的表位定位 (mapping)

【0261】 一般可將抗體表位定性為線性表位（也稱作連續表位）或構形表位（也稱作不連續表位）。雖然線性表位係基於單一連續的胺基酸序列來界定，但構形表位可由許多較小的不連續線性序列或單一完整殘基組成。叢集於抗體和抗原之間的分子間蛋白質界面之接觸殘基的集合也稱作熱點（Moreira等

人， *Proteins* **68** (4) :803-12 (2007))。現已廣泛地認知到，大部分的B細胞表位在本質上是不連續的 (Sivalingam和Shepherd, *Mol Immunol.* **51** (3-4) : 304-92012 (2012) , Kringelum等 人 , *Mol Immunol.* **53** (1-2) : 24-34 (2013)) , 有跨15-22個胺基酸殘基的平均表位，其中2-5個胺基酸促成大部分的結合 (Sivalingam和Shepherd, 同上述) 。

【0262】 藉由將對108種不同LAG-3突變體的結合親和力分級，此實施例說明，如何將抗LAG-3抗體15532、15431、15572和15011的結合表位分成線性表位和熱點，其與由參考抗體25F7-Lag3.5類似物識別的表位有區別。

方法

【0263】 人類LAG-3受體 (CD223) 為525個胺基酸 (AA) 的跨膜蛋白，其包含427個胺基酸的細胞外域 (ECD) (殘基23-450)、接著有跨膜域 (殘基451-471) 和細胞質域 (殘基472-525)。LAG-3 ECD含有4個免疫球蛋白域 (D1-D4)，其中第一域 (IgV型域) 涉及配體結合 (MHCII結合)，而其餘三個域為IgC2型域。單以前兩個N端域 (D1-D2) 足以用於配體結合，且已顯示D2對於正確的受體呈現是必需的 (Huard等人, *Proc Natl Acad Sci USA* **94**:5744-5749 (1997) , Andrews等 人 , *Immunol Rev.* **276** (1) : 80-96 (2017))。域1含有額外的30個胺基酸之獨特延伸 (額外環 (loop))，其不存在於其他IgV域中，且已顯示其對於配體結合是必要的。胺基酸 (AA) 99、110、125、131和137也經鑑定為對於配體結合是重要的 (成熟蛋白質中的Y77、R88、R103、D109、R115) (Huard等人, 同上述; Andrews等人, 同上述)。沒有關於LAG-3之刊載的結構。然而，已鑑定了LAG-3和CD4之間的序列和演化同源性，因此使得LAG-3上的結構資訊可基於CD4同源性模型化獲得 (Huard等, 同上; Andrews等人, 同上述) 。

【0264】 從UniProt或NCBI下載人類LAG-3和直系同源物之蛋白質序列：

人 類（P18627；SEQ ID NO: 68）、食 蟹 獼 猴（*Macaca fascicularis*，XP_005570011.1；SEQ ID NO: 69）、大 鼠（*Rattus norvegicus*、Q5BK54；SEQ ID NO: 70）和 犬（*Canis Lupus Familiaris*，F1P7Z3；SEQ ID NO: 71）。以下表 4顯示不同LAG-3細胞外域之胺基酸序列的序列一致性。

表4. 來自不同物種之LAG-3的細胞外域與人類LAG-3的胺基酸差異和序列一致性之列表

	胺基酸差異	% 序列一致性
食蟹獼猴 LAG-3 ECD	34	92.1
大鼠 LAG-3 ECD	140	67.3
犬 LAG-3 ECD	197	54.1

【0265】 為了將在天然人類LAG-3結構中的線性表位定位，設計35種嵌合蛋白，其中將人類LAG-3 ECD序列中的10個胺基酸依序交換為與5個胺基酸重疊之片段中的大鼠序列，並且在特別感興趣的區域（例如，關鍵的AA插入序列和環延伸）中補充犬和食蟹獼猴的版本。在跨胺基酸 23-170之人類LAG-3的結構域1中進行10個胺基酸序列交換。從基於CD4結晶結構的建構同源性模型（1WIO、1WIQ）和胺基酸序列比對，鑑定表面暴露的胺基酸，並設計80個在人類LAG-3域1上之個別的取代。引入的點突變主要為丙胺酸取代。當表面暴露的殘基為丙胺酸時，改變此位置為絲胺酸。

【0266】 基因合成編碼人類LAG-3細胞外域（AA 1-266）之域1和2的LAG-3 cDNA，並將其選殖至含有CMV啟動子和人類 IgG₁ Fc 序列（AA P101-K330）的載體，以使LAG域1-2 Fc 融合蛋白進行表現。藉由標準PCR和工程技術來產生突變的人類LAG-3 Fc融合構築體，並使用ExpiCHO™表現系統在2 ml 培養物中瞬時表現蛋白質。收集人類LAG-3 Fc融合構築體、將其純化並藉由表

面電漿共振 (SPR) 來測試對於抗LAG-3 mAb的結合親和力。使用連續流微點樣器 (CFM, Wasatch Microfluidics, 鹽湖城, US), 將LAG-3融合蛋白固定至G-a-hu-IgG Fc SensEye® (Ssens BV, 荷蘭) 上15分鐘。在點樣後, 將SensEye®置於IBIS MX96生物感應器中並評估捕獲的蛋白質之結合親和力。應用所謂的動力學滴定系列 (Karlsson R. 2006) 進行動力學分析, 其中以0.4 nM至300 nM的遞增濃度來注射本發明抗體之單體的Fab片段, 在每次Fab注射後不應用表面再生步驟。進行Fab結合15分鐘並進行抗原解離15分鐘。將所記錄的結合反應擬合至simple Langmuir 1:1結合模型, 以Scrubber 2軟體計算結合速率 (kon或ka)、解離速率 (koff或kd) 和親和力 (K_D) 常數。

結果

【0267】 針對LAG-3突變構築體的改變結合, 評估抗LAG-3抗體15532、15431、15572、15011和參考抗體25F7-Lag3.5類似物之Fab片段的結合親和力。將結合至突變的LAG-3構築體之Fab片段的結合親和力以KD突變體/KD野生型之間的比例 (正規化的結合親和力) 來表示。以下表5和6分別顯示對所有測試的嵌合蛋白及用於丙胺酸掃描實驗之正規化的結合親和力。以至少5倍親和力降低的截斷 (cutoff) 作為準則, 以用於偵測對於突變的LAG-3構築體顯著降低的結合親和力。在一些情況下, 沒有偵測到對特定抗體的結合。將這些構築體列為未結合 (N.B.)。

【0268】 分析顯示, 抗LAG-3抗體15532、15431、15572、15011之結合表位與參考抗體25F7-Lag3.5類似物之結合表位有區別。從具有在位置78-87、84-92、88-97插入的AA之嵌合蛋白 (域1額外環內的LAG-3中之集合的胺基酸延伸), 15532的結合表位是很明顯的。然而, 與25F7-Lag3.5不相似, 15532的線性表位擴張超過此延伸, 包括AA95-100、AA98-105和AA123-131。令人感興趣的是, 在區段99-131中已鑑定了配體相互作用之關鍵胺基酸 (Y99、R125 &

D131；Huard等人，同上述）。對於配體結合之決定性的區域中的突變，25F7-Lag3.5類似物沒有顯示任何敏感性。藉由丙胺酸取代來測量，鑑定出15532接觸殘基為H85、P86、A87、P89、S91、W92和G93，然而25F7-Lag3.5類似物沒有顯示對於P86和S91的敏感性，說明了在AA85-93 區域中分化的接觸殘基。15532能夠結合至有食蟹獼猴AA反突變（P84H； H85R；S90Y）的嵌合構築體#28，但25F7-Lag3.5類似物不行，再次反映在AA84-90區域內分化精細的表位。

【0269】 發現兩種抗體15431和15572皆結合在片段AA 23-30和40-66的線性表位。進一步的丙胺酸掃描說明，兩種抗體在位置A40、Q41、P43、P46、P49、D52、T62、Q64、H65、Q66、P67和D68共同佔有相同的接觸殘基。15431對於嵌合構築體88-97、95-100和98-105格外地敏感（區段AA 88-105）。證明該區域AA 98-105為15532、15431、15572和15011之間獨特共同佔有的表位。25F7-Lag3.5類似物不與此表位結合。丙胺酸掃描指出，15431和15572共同佔有接觸殘基P96、Y99、T100、V101、P106和G107，但15431有在位置G93、P94和R98上的獨佔接觸。抗體15431也具有在片段AA 123-131、128-137和148-154之線性表位。令人感興趣的是，先前已經顯示，位置125、131和137對於配體結合是重要的（Huard等人，同上述）。這些片段（AA 123-131、128-137和148-154）對於15572也是重要的，15572辨識在片段AA 118-137和148-161中的線性表位。丙胺酸掃描進一步顯示，15431和15572兩者共同佔有在位置R119、E124、R129、G130、D131、S133、R137、P138、D143、R148和R163的接觸殘基，而25F7-Lag3.5類似物沒有顯示對於這些表位區域或胺基酸位置之任一者的敏感性。

【0270】 抗體15011含有由具有AA 98-105範圍內突變的嵌合構築體所界定的線性表位，且丙胺酸掃描進一步將獨特的表位擴及至包括在位置G107、

L109、R110和S111的接觸殘基。令人感興趣的是，已顯示R110對於配體結合是重要的（Huard等人，同上述）。人類、食蟹獼猴、小鼠和大鼠直系同源物之間在此區域（AA 98-113）的胺基酸序列有很好的保守性，說明了此抗體對鼠和食蟹獼猴LAG-3之交叉反應性（實施例12）。以下表7顯示所收集的表位定位結果之概述。

【0271】 總之，吾人藉由分析對一組108個LAG-3突變體，在單一胺基酸解析中顯示四種抗體15532、15431、15572和15011辨識LAG-3之域1中獨特的但部分重疊的表位。此發現與實施例13的表位分組分析一致，顯示15532與25F7-Lag3.5類似物交叉競爭，但具有與其他LAG-3抗體不同的競爭模式且因此有不同的表位（表7）。15431、15572和15011沒有與15532或25F7-Lag3.5競爭結合且具有與不同的表位倉2抗體之獨特的競爭模式。分配的表位倉（實施例13）與揭示各抗體顯示獨特分化的表位之表位定位十分吻合（表7）。包括嵌合構築體#28之表位數據也更加佐證結合親和力分析（實施例12），其中15532顯示對食蟹獼猴LAG-3有顯著的結合，而25F7-Lag3.5並沒有，反映了因分化接觸殘基所致的不同抗體特性。

表5. 結合突變的LAG-3 ECD構築體的抗LAG-3抗體之Fab片段的結合親和力分析之概述，該突變的LAG-3 ECD構築體具有插入的大鼠、犬或食蟹獼猴序列片段。以K_D 突變體/K_D野生型表示正規化的結合。

嵌合建 構體 #	經掃描 的區域 人類 LAG-3	突變的 區域 人類 LAG-3	從其他物種 所引入的 突變	15532	15431	15572	15011	25F7-Lag3.5 類似物
1	AA 23-32	AA 23-30	L23S ; Q24G ; A27K ; V29L ; P30S	3.2	N.B.	N.B.	0.5	1.3
2	AA 28-37	AA 29-30	V29L ; P30S	3.1	N.B.	N.B.	0.5	1.2
3	AA 33-42	AA 40-41	A40V ; Q41H	2.2	N.B.	N.B.	0.5	1.3
4	AA 38-47	AA 40-47	A40V ; Q41H ; P46L ; T47E	3.9	N.B.	N.B.	0.5	1.3
5	AA 43-52	AA 46-51	P46L ; T47E ; I48F ; L50H ; Q51L	2.7	N.B.	N.B.	0.5	1.3
6	AA 48-57	AA 48-55	I48F ; L50H ; Q51L ; L53P ; S54N ; L55F	3.4	N.B.	N.B.	0.5	1.4
7	AA 53-62	AA 53-60	L53P ; S54N ; L55F ; A59G ; G60W	3.4	N.B.	N.B.	0.5	1.4
8	AA 58-67	AA 59-66	A59G ; G60W ; Q66R	2.7	N.B.	N.B.	0.5	1.3
9	AA 63-72	AA 66-71	Q66R ; G70D ; P71Q	3.9	0.4	1.1	0.7	1.3

10	AA 68-77	AA 70-77	G70D ; Q71Q ; A74S ; A75I ; G77A	1.1	1.1	0.7	1.8	1.0
11	AA 73-82	AA 74-82	A74S ; A75I ; G77A ; H78L ; P79D ; A81L ; P82Q	1.5	0.4	0.5	0.6	1.1
12	AA 78-87	AA 78-87	H78L ; P79D ; A81L ; P82Q ; delP84-A87	N.B.	0.8	0.8	0.9	N.B.
13	AA 83-92	AA 84-92	delP84-A87 ; A88M ; S91T ; W92R	N.B.	0.6	1.1	1.3	N.B.
14	AA 88-97	AA 88-97	A88M ; S91T ; W92R ; G93R ; P94H ; R95P ; R97H	N.B.	N.B.	0.7	0.6	N.B.
15	AA 93-102	AA 95-100	R95G ; R98S ; T100V	6.5	N.B.	3.1	1.9	1.5
16	AA 98-107	AA 98-105	R98S ; T100V ; S103M ; V104R ; G105A	6.3	N.B.	N.B.	7.2	1.7
17	AA 108-117	AA 114-117	L114Q ; Q117L	1.4	0.5	0.5	2.6	1.3
18	AA 113-122	AA 114-119	L114Q ; Q117L ; P118S ; R119H	1.1	0.6	0.6	2.1	0.8
19	AA 118-127	AA 118-127	P118S ; R119H ; D123E ; E124K ; R127P	0.5	0.5	N.B.	0.6	0.8
20	AA 123-132	AA 123-131	D123N ; E124S ; R125P ; R127P ; Q128T ; delG130-D131	5.4	N.B.	N.B.	0.3	1.3
21	AA 128-137	AA	Q128T ; delG130-D131 ;	4.7	N.B.	N.B.	0.4	1.4

		128-137	W135A : R137Q					
22	AA 133-142	AA 140-142	R140T : A142K	1.3	0.6	0.8	0.5	1.2
23	AA 143-152	AA 148-152	R148H : A150F : H152R	2.5	3.5	N.B.	2.0	0.8
24	AA 148-156	AA 148-154	R148H : A150F ; H152R : R154P	2.6	10.6	N.B.	1.9	0.7
25	AA 153-160	AA 154-158	R154P : A157D : L158F	1.1	0.8	N.B.	1.9	0.7
26	AA 157-165	AA 157-161	A157D : L158F : R161S	1.1	0.6	N.B.	0.7	0.9
27	AA 161-170	AA 161-166	R161S : L166V	0.8	1.3	1.7	2.3	0.8
28	AA 83-92	AA 84-90	P84H : H85R : S90Y	4.8	1.1	0.5	0.6	N.B.

< 5 倍 KD 改變
嵌合突變體

> 5 倍 KD 改變
嵌合突變體

未結合之嵌合突變體

N.B.

表6. 結合點突變掃描的人類LAG-3之抗LAG-3抗體的Fab片段之結合親和力分析的概述。以 K_D 突變體/ K_D 野生型表示正規化的結合。

點突變 #	在人類 LAG-3 中突變的 AA	15532	15431	15572	15011	25F7-Lag3.5 類似物
1	A40S	4.4	N.B.	N.B.	0.6	1.1
2	Q41A	3.4	N.B.	N.B.	0.7	1.0
3	P43A	3.8	N.B.	N.B.	0.6	1.2
4	S45A	1.7	0.4	0.6	0.7	1.0
5	P46A	4.0	N.B.	N.B.	0.7	1.1
6	T47A	1.5	0.9	0.6	0.9	0.8
7	P49A	1.7	N.B.	N.B.	0.8	1.1
8	Q51A	0.9	0.7	0.6	0.8	0.8
9	D52A	1.7	N.B.	N.B.	0.7	0.8
10	S54A	0.7	0.5	0.7	0.8	0.8
11	L56A	1.2	0.3	0.7	0.7	0.9
12	R57A	1.1	0.6	0.8	0.7	0.7
13	R58A	0.8	1.2	0.8	1.7	0.8
14	T62A	4.2	N.B.	N.B.	0.6	1.3
15	Q64A	2.9	N.B.	N.B.	0.6	1.3
16	H65A	3.8	N.B.	N.B.	0.5	1.2
17	Q66A	2.7	N.B.	N.B.	0.7	0.9
18	P67A	3.8	N.B.	N.B.	0.6	1.1
19	D68A	3.4	N.B.	N.B.	0.6	0.9
20	A73S	0.7	0.6	0.6	0.7	0.8
21	A74S	1.0	0.8	0.7	0.8	0.9
22	A75S	0.9	0.8	0.7	0.8	0.9
23	P76A	1.0	0.7	0.6	0.8	0.9
24	G77A	1.0	0.7	0.7	0.8	1.0
25	H78A	0.9	0.4	0.5	0.7	0.8
26	P79A	0.9	0.4	0.4	0.6	0.8
27	L80A	0.6	0.5	0.6	0.8	0.7
28	A81S	0.6	0.6	0.6	0.8	0.7
29	P82A	1.0	1.0	0.8	0.9	0.9
30	G83A	1.1	0.5	0.5	0.7	1.0
31	P84A	0.5	1.1	0.9	1.0	0.6
32	H85A	7.2	0.8	0.7	0.9	14.1
33	P86A	6.1	0.6	0.7	0.7	2.7
34	A87S	N.B.	1.0	0.9	1.0	N.B.
35	A88S	3.7	0.6	0.6	0.9	3.5
36	P89A	14.2	0.8	0.8	0.9	N.B.
37	S90A	0.6	0.9	0.8	0.9	1.0
38	S91A	5.3	0.7	0.7	0.8	2.2
39	W92A	N.B.	3.6	1.0	1.1	N.B.
40	G93A	7.1	11.6	0.8	1.0	6.2
41	P94A	0.8	N.B.	0.6	0.7	0.8

42	R95A	3.7	1.9	0.6	0.7	1.9
43	P96A	1.4	N.B.	N.B.	0.6	0.7
44	R97A	0.9	1.3	0.6	0.7	0.9
45	R98A	1.6	N.B.	0.9	1.2	0.9
46	Y99A	4.1	N.B.	N.B.	0.5	1.0
47	T100A	3.9	N.B.	N.B.	0.6	1.2
48	V101A	3.5	N.B.	N.B.	0.5	1.0
49	G105A	1.1	0.4	0.4	1.6	1.0
50	P106A	2.7	N.B.	N.B.	4.6	1.0
51	G107A	2.1	N.B.	N.B.	5.7	0.8
52	G108A	1.0	0.3	0.4	0.5	0.9
53	L109A	1.1	1.0	1.0	84.2	0.9
54	R110A	0.9	0.9	0.6	N.B.	0.9
55	S111A	1.0	0.8	0.7	53.4	0.9
56	G112A	1.0	0.5	0.5	3.1	0.9
57	R113A	0.6	0.9	0.7	3.3	0.8
58	P115A	1.0	1.1	1.4	1.3	1.0
59	Q117A	0.8	0.4	0.5	0.7	0.8
60	P118A	0.7	1.0	0.9	1.2	0.8
61	R119A	3.2	N.B.	N.B.	0.6	1.1
62	Q121A	0.9	1.0	0.6	0.9	0.9
63	D123A	1.0	0.9	0.5	0.8	1.0
64	E124A	1.8	N.B.	N.B.	0.8	1.1
65	R125A	0.9	1.1	1.1	1.1	0.9
66	G126A	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
67	R127A	0.6	0.9	0.5	0.9	0.7
68	Q128A	0.7	0.8	0.9	1.0	0.7
69	R129A	3.0	N.B.	N.B.	0.7	1.2
70	G130A	4.4	N.B.	N.B.	0.6	1.3
71	D131A	4.2	N.B.	N.B.	0.6	1.2
72	S133A	2.2	N.B.	N.B.	0.6	1.1
73	R137A	3.6	N.B.	N.B.	0.6	1.0
74	P138A	2.7	N.B.	N.B.	0.7	1.0
75	R141A	0.7	1.0	0.9	1.1	0.8
76	D143A	3.8	N.B.	N.B.	0.5	1.0
77	R148A	2.9	N.B.	N.B.	0.7	1.2
78	R154A	0.8	1.0	0.8	1.2	0.8
79	S159A	0.7	0.9	0.3	0.7	0.8
80	R163A	2.5	N.B.	N.B.	0.6	1.0

N.B.

< 5 倍 K_D 改變
點突變
> 5 倍 K_D 改變
點突變
未結合之
點突變

表7. 測試的抗LAG-3抗體之經鑑定的結合表位之概述

抗體	表位倉	線性表位	完整的殘基
15532	2D	78-105 123-131	H85、P86、A87、P89、S91、W92、G93
15431	4	23-30 40-66 88-105 123-137 148-152	A40、Q41、P43、P46、P49、D52 T62、Q64、H65、Q66、P67、D68 G93、P94、P96、R98、Y99、T100、V101、P106、G107 R119、E124 R129、G130、D131、S133、R137、P138、 D143、R148、R163
15572	3	23-30 40-66 98-105 118-137 148-161	A40、Q41、P43、P46、P49、D52 T62、Q64、H65、Q66、P67、D68 P96、Y99、T100、V101、P106、G107 R119、E124 R129、G130、D131、S133、R137、P138、 D143、R148、R163
15011	1	98-105	G107、L109、R110、S111
25F7- Lag3.5 類似物	2E	78-97	H85、A87、P89、W92、G93

表8. 關於VH、VL、HC和LC之DNA和蛋白質序列的SEQ ID NO

SEQ ID NO	序列
1	15646 重鏈可變域 (VH) DNA 序列
2	15646 輕鏈可變域 (VL) DNA 序列
3	15646 VH 蛋白質序列
4	15646 VL 蛋白質序列
5	15532 VH DNA 序列
6	15532 VL DNA 序列
7	15532 VH 蛋白質序列
8	15532 VL 蛋白質序列
9	15723 VH DNA 序列
10	15723 VL DNA 序列
11	15723 VH 蛋白質序列
12	15723 VL 蛋白質序列
13	15595 VH DNA 序列
14	15595 VL DNA 序列
15	15595 VH 蛋白質序列
16	15595 VL 蛋白質序列
17	15431 VH DNA 序列
18	15431 VL DNA 序列
19	15431 VH 蛋白質序列
20	15431 VL 蛋白質序列
21	15572 VH DNA 序列
22	15572 VL DNA 序列
23	15572 VH 蛋白質序列
24	15572 VL 蛋白質序列
25	15011 VH DNA 序列
26	15011 VL DNA 序列
27	15011 VH 蛋白質序列
28	15011 VL 蛋白質序列
29	IgG ₁ -LALA 重鏈 (HC) 恆定區 DNA 序列
30	IgG ₁ -LALA 重鏈 (HC) 恆定區蛋白質序列
31	Ig λ 輕鏈 (LC) 恆定區 DNA 序列
32	Ig λ 輕鏈 (LC) 恆定區蛋白質序列
33	Ig κ 輕鏈 (KC) 恆定區 DNA 序列
34	Ig κ 輕鏈 (KC) 恆定區蛋白質序列

表9. 抗LAG-3抗體的VH和VL之DNA和蛋白質序列以及H-CDR1-3和L-CDR1-3胺基酸序列的SEQ ID NO

抗體	VH (DNA)	VL (DNA)	VH (蛋白質)	VL (蛋白質)	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3
15646	1	2	3	4	35	36	37	38	39	40
15532	5	6	7	8	41	42	43	44	45	40
15723	9	10	11	12	35	42	46	44	47	40
15595	13	14	15	16	48	49	50	51	47	52
15431	17	18	19	20	53	54	55	44	45	40
15572	21	22	23	24	56	57	58	59	60	61
15011	25	26	27	28	62	63	64	65	66	67

表10. 抗LAG-3抗體的互補性決定區（CDR）和OMT源自大鼠之抗體的生殖細胞系基因來源

抗體編號	IGHV 基因	H-CDR1	H-CDR2	H-CDR3	SEQ ID NO
15646	IGHV4-34	GGFSFGYY	INHRGST	CTRGEWESLFFDYW	35-37
15532	IGHV4-34	GESFSGYY	INHSGST	CARGWDLLDWNDYWNEYW	41-43
15723	IGHV4-34	GGFSFGYY	INHSGST	CARGEDWGESFFDYW	35、42、46
15595	IGHV1-24	GYSLTEIS	FDPEDGET	CATGGWGPWNFDPW	48-50
15431	IGHV6-1	GDSVSSNSA	TYYRSKW	CARDDDWNDFDYW	53-55
15572	IGHV4-39	GDSISSSSYY	IFYSGNT	CAREDDFLTDYYGAFDIW	56-58
15011	IGHV3-23*	GFDFRSYA	INGEVGSNT	CVKGAGACGICNDIDAW	62-64

抗體編號	IGKV 基因	L-CDR1	L-CDR2	L-CDR3	SEQ ID NO
15646	IGKV3-11	QSISSY	GAS	CQQRSNWPLTF	38-40
15532	IGKV3-11	QSVSSY	DAS	CQQRSNWPLTF	44、45、40
15723	IGKV3-11	QSVSSY	AAS	CQQRSNWPLTF	44、47、40
15595	IGKV1-12	QGISSW	AAS	CQQANSFPFTF	51、47、52
15431	IGKV3-11	QSVSSY	DAS	CQQRSNWPLTF	44、45、40
15572	IGKV1-5	QSISSW	KAS	CQQYNSYLTf	59-61
15011	IGLV3-19*	GSYAGSY	DND	CGSTNDNDGGGLF	65-67

*用於人類化之基因，參見實施例2。

序列表

VH 和 VL 之 DNA 和蛋白質序列

SEQ ID NO: 1 (15646 VH DNA 序列)

CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGTGCCGGTCTGCTGAAGCCTTCTGAAAC
TCTGTCTCTGACTTGTGCCGTCTATGGTGGATCATTGAGCGGCTACTATTG
GTCCTGGATCAGGCAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAG
ATCAACCACCGGGGCTCTACCAACTACAATCCCTCTCTGAAGAGCAGGGT
GACCATCTCCGTGGACACATCTAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCT
CCGTGACCGCCGCTGATACAGCCGTGTACTATTGCACAAGGGGGGAGGA
ATGGGAGTCACTGTTCTTTGATTACTGGGGGCAGGGGACACTGGTCACAG
TCTCGAGT

SEQ ID NO: 2 (15646 VL DNA 序列)

GAAATCGTCCTGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGAGCCTGAGCCCCGGAGA
AAGAGCCACCCTGTCCTGCCGAGCAAGCCAGTCCATCAGCTCCTATCTCG
CCTGGTATCAGCAGAAACCAGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGGC
GCCTCCAACAGAGCTACAGGAATCCCAGCCCGCTTCAGCGGCTCCGGCTC
TGGCACAGACTTTACCCTGACAATCTCTAGCCTGGAGCCTGAGGATTTCG
CCGTGTACTATTGCCAGCAGAGATCTAATTGGCCACTGACATTCGGCGGC
GGCACACGGGTGGAGATCAAG

SEQ ID NO: 3 (15646 VH 蛋白質序列)

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEI
NHRGSTNYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTRGEWES
LFFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 4 (15646 VL 蛋白質序列)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASNR
ATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTRVEIK

SEQ ID NO: 5 (15532 VH DNA 序列)

CAGGTTCAGCTGCAGCAGTGGGGCGCCGGCCTGCTGAGACCAAGCGAGA
CCCTGTCCCTGACATGCGCCGTGTATGGCGAGAGCTTCTCCGGCTATTACT
GGAAGTGGATCCGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGA
GATCAATCACTCCGGCTCCACCAATTACAACCCATCCCTGAAGTCTCGGG
TGACAATCAGCGTGGATACAAGCAAGACCCAGTTCAGCCTGAAGCTGAG
CTCCGTGACAGCTGCCGATACCGCCGTGTATTACTGCGCCAGAGGCTGGG
ACCTGCTGGATTGGAATGACTACTGGAATGAGTACTGGGGCCAGGGGAC
CCTGGTGACCGTCTCGAGT

SEQ ID NO: 6 (15532 VL DNA 序列)

GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACCCTGTCTCTGTCCCCTGGCGA
GCGGGCCACCCTGTCCTGTAGAGCTTCTCAGTCCGTGTCTTCTACCTGGC
TTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCAAGACTGCTGATCTATGAC
GCTTCCAATCGGGCTACCGGCATCCCAGCTCGCTTTAGCGGCTCCGGCTC
CGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCCTGGAGCCAGAGGATTTTG
CCGTGTATTACTGTCAGCAGAGGTCCAATTGGCCACTGACATTTGGCGGC
GGCACAAGGTTGAGATCAAG

SEQ ID NO: 7 (15532 VH 蛋白質序列)

QVQLQQWGAGLLRPSETLSLTCVYGESFSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGEI
NHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKTQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGWDLID
WNDYWNEYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 8 (15532 VL 蛋白質序列)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN
RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 9 (15723 VH DNA 序列)

CAGGTTCAGCTGCAGCAGTGGGGCGCTGGCCTGCTGAAGCCCTCTGAGAC
CCTGTCTCTGACCTGTGCCGTGTATGGCGGCAGCTTCTCCGGCTATTACTG
GAACTGGATCCGCCAGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAG
ATCAACCACTCCGGCTCTACCAACTACAATCCTTCTCTGAAGTCCAGGGT
GACAATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTTAGCCTGAAGCTGTCC
AGCGTGACAGCTGCCGATACAGCCGTGTATTACTGCGCCAGAGGCGAGG
ATTGGGGCGAGAGCTTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGGACCCTGGTGACC
GTCTCGAGT

SEQ ID NO: 10 (15723 VL DNA 序列)

GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACCCTGTCTCTGTCCCCTGGCGA
GCGGGCCACCCTGAGCTGTCGGGCCTCCAGTCCGTGAGCTCCTACCTGG
CTTGGTATCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCAAGACTGCTGATCTACGCC
GCTTCCAATCGGGCCACCAGCATCCCCGCCAGATTTTCCGGCTCTGGCTCC
GGCACCGATTTACCCCTGACAATCAGCTCCCTGGAGCCAGAGGACTTCGC
CGTGTACTACTGCCAGCAGAGGTCTAATTGGCCACTGACATTTGGCGGCG
GCACCAAGGTTGAGATCAAG

SEQ ID NO: 11 (15723 VH 蛋白質序列)

QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTCVYGGSFSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGEI
NHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGEDWGE
SFFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 12 (15723 VL 蛋白質序列)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYAASN
RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 13 (15595 VH DNA 序列)

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCTTC
TGTGAAGGTTTCTCTGTAAGGTTTCCGGCTATAGCCTGACCGAGATCTCTAT
GCACTGGGTACGGCAAGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGGC
TTTGACCCAGAGGATGGCGAGACCATCTACGCTCAGAGGTTTCAGGGGCG
CGTGATCATGACCGAGGATAACAGCACCGATAACCGCCTACATGGAGCTGT
CCAGCCTGAGATCCGAGGATAACGCCGTGTATTACTGCGCTACTGGTGGC
TGGGGCCCCAATTGGTTCGATCCTTGGGGCCAGGGGACCCTGGTGACCGT
CTCGAGT

SEQ ID NO: 14 (15595 VL DNA 序列)

GACATCCAGATGACACAGTCTCCTTCCTCTGTGAGCGCCTCTGTGGGCGA
CCGCGTGACCATCACATGCCGCGCTTCCCAGGGGATCTCTTCCTGGCTGG
CTTGGTACCAGCAGAAGCCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTATGCT
GCCAGCAGCCTGCAGTCCGGCGTGCCTTCCAGGTTTAGCGGCTCCGGCTC
CGGCACCGACTTTACACTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGGATTTTG
CCACCTATTACTGTCAGCAGGCGAATTCCTTCCCTTTTACATTCGGCCCTG
GCACCAAGGTTGATATCAAG

SEQ ID NO: 15 (15595 VH 蛋白質序列)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYSLTEISMHWVRQAPGKGLEWMGG
FDPEDGETIYAQRFQGRVIMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDYAVYYCATGGWG
PNWFDPWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 16 (15595 VL 蛋白質序列)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS
LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPFTFGPGTKVDIK

SEQ ID NO: 17 (15431 VH DNA 序列)

CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCAAGCCAGA
CCCTGTCTCTGACATGCGCCATCTCCGGCGACAGCGTGTCCTCTAACTCCG
CCGCTTGGAATTGGATCCGGCAGTCTCCATCCAGAGGCCTGGAGTGGCTG
GGCAGAACCTATTACCGGTCCAAGTGGTACAACGATTATGCCGTGTCCGT
GAAGAGCAGAATCACCATCAACCCTGATACCAGCAAGAACCAGTTCAGC
CTGCAGCTGAATTCCGTGACCCAGAGGATAACAGCCGTGTATTACTGTGC
TAGGGACGATGATTGGAATGACTTCGATTACTGGGGCCAGGGGACCCTGG
TGACAGTCTCGAGT

SEQ ID NO: 18 (15431 VL DNA 序列)

GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCAGCTACACTGTCCCTGTCTCCCGGCGA
GCGGGCCACCCTGAGCTGTAGAGCTTCCCAGTCCGTGTCTTCCCTATCTGGC
TTGGTATCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCAAGGCTGCTGATCTACGAC
GCCTCCAATAGAGCCACCGGCATCCCAGCTAGATTTTCTGGCTCCGGCTC
CGGCACCGATTTCACACTGACCATCTCTAGCCTGGAGCCAGAGGATTTTG
CTGTATATTACTGCCAGCAGCGCAGCAACTGGCCCCTGACATTTGGCGGC
GGCACCAAGGTTGAGATCAAG

SEQ ID NO: 19 (15431 VH 蛋白質序列)

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGR
TYYRSKWyNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARD
DDWNDFDYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 20 (15431 VL 蛋白質序列)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN
RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 21 (15572 VH DNA 序列)

CAGCTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCTCTGAGA
CCCTGTCCCTGACATGCACCGTGAGCGGCGATTCCATCAGCTCTTCCAGCT
ATTACTGGGGCTGGATCCGGCAGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATC
GGCAGCATCTTCTACTCCGGCAATACATATTATAATCCTTCTCTGAAGAGC
AGGGTGACAATCAGCGTGGATACCTCCAAGAATCAGTTTAGCCTGAAGCT
GAGCTCCGTGACAGCTGCCGATACAGCCGTGTATTACTGCGCTAGGGAGG
ACGATTTTCTGACCGATTATTACGGCGCTTTCGACATCTGGGGCCAGGGG
ACAATGGTGACAGTCTCGAGT

SEQ ID NO: 22 (15572 VL DNA 序列)

GATATCCAGATGACCCAGTCTCCAAGCACCCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGA
TCGGGTGACCATCACATGTCGGGCTTCTCAGTCCATCAGCAGCTGGCTGG
CTTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGGCCCCAAAGCTGCTGATCTACAAG
GCCTCTTCCAGCGAGAGCGGCGTGCCATCCAGGTTTAGCGGCTCCGGCTC
CGGCACCGAGTTTACCCTGACCATCTCTTCCCTGCAGCCCGATGACTTTGC
CACCTACTACTGTCAGCAGTACAATTCCTATCTGACATTCGGCGGCGGCA
CCAAGGTTGAGATCAAG

SEQ ID NO: 23 (15572 VH 蛋白質序列)

QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSSSYWGWIRQPPGKGLEWIGSIF
YSGNTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREDDFLTD
YYGAFDIWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO: 24 (15572 VL 蛋白質序列)

DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS
SESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSTLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 25 (15011 VH DNA 序列)

GAGGTGCAGCTGCTGGAATCCGGAGGAGGACTGGTCCAGCCAGGTGGAT
CCCTGCGACTGAGCTGCGCCGCTTCTGGCTTCGACTTTAGAAGCTACGCA
ATGATGTGGGTCCGCCAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAGTGGGTGGGAG
GGATCAACGGTGAAGTCGGTGGCTCTAATACATACTATGCACCTGCCGTC
AAGGGAAGGGCTACTATTAGTCGGGACAACCTCAAAAAATACCCTGTATCT
GCAAATGAACAGTCTGAGGGCCGAGGATACCGCCGTGTACTATTGCGTGA
AAGGTGCTGGCGCATGCGGCATCTGTAATGACGATATTGATGCATGGGGA
CAGGGGACCCTGGTGACAGTCTCGAGT

SEQ ID NO: 26 (15011 VL DNA 序列)

AGTTATGAGCTGACTCAGGACCCAGCAGTGTCTGAGTCGCCCTGGGCCCAGAC
AGTGAGAATCACTTGCAGTGGGGCTGGTTCATATGCAGGCTCCTACTATT
ACGGATGGCACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCACCTGTGACAGTCATCTA
CGACAACGATAAAAGGCCAAGCAATATTCCCGACCGGTTCTCTGGGTCCA
GCTCTGGTAACACCGCCTCCCTGACCATTACTGGGGCCCAGGCTGAGGAC
GAAGCTGATTATTACTGTGGCTCTACAAACGATAATGACGATGGCGGACT
GTTTGGCTCCGGAACCTAAGGTCACCGTCCTA

SEQ ID NO: 27 (15011 VH 蛋白質序列)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDGRSYAMMWVRQAPGKGLEWVGG
INGEVGGSNTYYAPAVKGRATISRDNSTNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVKG
AGACGICNDIDAWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 28 (15011 VL 蛋白質序列)

SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGAGSYAGSYYYGWHQQKPGQAPVTVIYD
NDKRPSNIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGSTNDNDGGLFGS
GTKVTVL

恆定區 DNA 和蛋白質序列

SEQ ID NO: 29 (IgHC 恆定區 DNA 序列)

GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAG
CACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCC
CCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT
GCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA
ACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCC
CAAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAG
CCGCCGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACC

CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG
CCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG
GTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGT
ACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG
AGAAAACCATCTCCAAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA
CACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA
GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG
GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAG
CAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTC
TGACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAA

SEQ ID NO: 30 (IgHC 恆定區蛋白質序列)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT
HTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 31 (IgLC 恆定區 DNA 序列)

GGCCAGCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGA
GGAGCTCCAAGCCAACAAGGCCACACTAGTGTGTCTGATCAGTGACTTCT
ACCCGGGAGCTGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATGGCAGCCCCGTCAA
GGCGGGAGTGGAGACCACCAAACCCTCCAAACAGAGCAACAACAAGTAC
GCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCCAGCAGTGGAAGTCCCACA
GAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGAC
AGTGGCCCCTACAGAATGTTCA

SEQ ID NO: 32 (IgLC 恆定區蛋白質序列)

GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG
VETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE
CS

SEQ ID NO: 33 (IgKC 恆定區 DNA 序列)

CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAG
TTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCC
AGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA
ACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG
CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAA
GTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAACAAA
GAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

SEQ ID NO: 34 (IgKC 恆定區蛋白質序列)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC

SEQ ID NO: 35 (15646/15723 H-CDR1)

GGSFSGYY

SEQ ID NO: 36 (15646 H-CDR2)

INHRGST

SEQ ID NO: 37 (15646 H-CDR3)

CTRGEEWESLFFDYW

SEQ ID NO: 38 (15646 L-CDR1)

QSISSY

SEQ ID NO: 39 (15646 L-CDR2)

GAS

SEQ ID NO: 40 (15646/15532/15723/15431 L-CDR3)

CQQRSNWPLTF

SEQ ID NO: 41 (15532 H-CDR1)

GESFSGYY

SEQ ID NO: 42 (15532/15723 H-CDR2)

INHSGST

SEQ ID NO: 43 (15532 H-CDR3)

CARGWDLLDWNDYWNEYW

SEQ ID NO: 44 (15532/15723/15431 L-CDR1)

QSVSSY

SEQ ID NO: 45 (15532/15431 L-CDR2)

DAS

SEQ ID NO: 46 (15723 H-CDR3)

CARGEDWGESFFDYW

SEQ ID NO: 47 (15723/15595 L-CDR2)
AAS

SEQ ID NO: 48 (15595 H-CDR1)
GYSLTEIS

SEQ ID NO: 49 (15595 H-CDR2)
FDPEDGET

SEQ ID NO: 50 (15595 H-CDR3)
CATGGWGPNWFDPW

SEQ ID NO: 51 (15595 L-CDR1)
QGISSW

SEQ ID NO: 52 (15595 L-CDR3)
CQQANSFPFTF

SEQ ID NO: 53 (15431 H-CDR1)
GDSVSSNSA

SEQ ID NO: 54 (15431 H-CDR2)
TTYRSKW

SEQ ID NO: 55 (15431 H-CDR3)
CARDDDWNDFDYW

SEQ ID NO: 56 (15572 H-CDR1)
GDSISSSSY

SEQ ID NO: 57 (15572 H-CDR2)
IFYSGNT

SEQ ID NO: 58 (15572 H-CDR3)
CAREDDFLTDYYGAFDIW

SEQ ID NO: 59 (15572 L-CDR1)
QSISSW

SEQ ID NO: 60 (15572 L-CDR2)
KAS

SEQ ID NO: 61 (15572 L-CDR3)
CQQYNSYLTF

SEQ ID NO: 62 (15011 H-CDR1)
GFDFRSYA

SEQ ID NO: 63 (15011 H-CDR2)
INGEVGGSNT

SEQ ID NO: 64 (15011 H-CDR3)
CVKGAGACGICNDDIDAW

SEQ ID NO: 65 (15011 L-CDR1)
GSYAGSY

SEQ ID NO: 66 (15011 L-CDR2)
DND

SEQ ID NO: 67 (15011 L-CDR3)
CGSTNDNDDGGLF

SEQ ID NO: 68 (人類 LAG-3)
MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAIEVPVWVAQEGAPAQLPCSPTIPLQ
DLSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGPHPAAPSSWGPRPRRYTVLS
VGPGGLRSGRLPLQPRVQLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLR
DRALSCRLRLRLGQASMTASPPGSLRASDWVILNCSFSRPDRPASVHWFRNR
GQGRVPVRESPHHHLAESFLFLPQVSPMDSGPWGCILTYRDGFNVSIMYNLT
VLGLEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGTRSFLLTAKWTPPGGGPDLLVT
GDNGDFTLRLEDVSQAQAGTYTCHIHLEQQQLNATVTLAIITVTPKSFGSPGS
LGKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLY
QGERLLGAAYFTELSSPGAQRSGRAPGALPAGHLLLFLILGVLSLLLLVTGA
FGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPEPEPEPEPE
QL

SEQ ID NO: 69 (食蟹獼猴 LAG-3)
MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPPQPGAIEISVVWVAQEGAPAQLPCSPTIPLQD
LSLLRRAGVTWQHQPDSGPPAXAPGHPPVPGHRPAAPYSWGPRPRRYTVLS
VGPGGLRSGRLPLQPRVQLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRATVHLR
DRALSCRLRLRVGQASMTASPPGSLRTSDWVILNCSFSRPDRPASVHWFRSR
GQGRVPVQGSPPHHHLAESFLFLPHVGPMDSGLWGCILTYRDGFNVSIMYNLT
VLGLEPATPLTVYAGAGSRVELPCRLPPAVGTQSFLTAKWAPPGGGGPDLLVA
GDNGDFTLRLEDVSQAQAGTYICHIRLQGQQLNATVTLAIITVTPKSFGSPGS

LGKLLCEVTPASGQEHFVWSPLNTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPWQCQLH
QGERLLGAAVYFTELSSPGAQRSGRAPGALRAGHLPLFLILGVLFLLLLVTGA
FGFHLWRRQWRPRRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPELEPEPELERELGPEP
EPGPEPEPEQL

SEQ ID NO: 70 (大鼠 LAG-3)

MRQDLFLDLLLQLLWEAPVVSSGPGKELSVVWAQEGAPVHLPCSLEFPHL
DPNFLRRGWVTWQHRPDSQPASIPALDLLQGMPTSTRRHPPHRYTVLSVAPG
GLRSGRQPLLSHVQLEKRGPRGRGDFSLWLRPATRKDAGEYHAFVRLPDRDFS
CSLRLRVGQASMIASPPGTLKPSDWVILNCSFSRPDRPVSVHWFQGGQSRVPV
HNSPRHYLAESFLLLPQVSPLDSGTWGCVLTYRDGFNVSITYNLKVQGLEPV
APLTVYAAEGSRVELPCHLPPVVGTPSLLIKWTPPGGGPELPVTGKSGNFTL
QLENVGRAQAGTYTCSIHLQGRQLSAAVTLAVITVTPKSFGLPGSPQKLLCEV
VPASGEGRFVWRPLSDLSRSSLGPVLELQEAKLLAEQWQCQLYEGQKLLGA
TVYTAESSSGAWSAKRISGDLKGGHLFSLILGALALFLLVTGAFGFHLWRR
QLLRRRFSALEHGIRPPPVSQKIEELEREPETEMEPETEPDPEPQPEPELEPESR
QL

SEQ ID NO: 71 (犬 LAG-3)

MWEVQFLVLLLLQLLWVAPVAAPGSGTEVQVVWAQEGAPVQLPCSPTIPLQ
DVSLLRNAGVTWYHLPESGPAAPALSLRPAAPSARGPGPRSYVLMRAPGG
LRSGLVPTVNALALNSPGPTRFSLALQTVISLPHSWLFPGPSSLPGQPLASCWP
SPHVGVCVCEHPPFIHLTLLPARQSPLLFLPSLQPQCSASLYLSLASTLASS
FPGLEPSGPLTVYTGAGSRVGLPCRLPPGVGTQSFLTAKWTPPGGGPDLLVA
GDDGNFTLQLEVVNQAQAGTYTCHIHLQGGQQLSTTVTLAVITVTPKSSGLPG
NLRKLLCEVTPASGQERFVWSPLDKQSWRGSPGPCLEMQETRLLSQPWQCH
VYQAERLLGTAVYLIDPAGPGAQRSGRAQGVLTGHLSLLLILGILFLLLLMT
GAFGFQLWRRQWRPRRFSALELGTHPPQAQSKIGELEQEPELELEPEPELEPE
PEPE

SEQ ID NO: 72 (小鼠 LAG-3)

MREDLLLGFLLLGLLWEAPVVSSGPGKELPVVWAQEGAPVHLPCSLKSPNLD
PNFLRRGGVIWQHQPDSGQPTPIPALDLHQGMPSRQPAPGRYTVLSVAPGGL
RSGRQPLHPHVQLEERGLQRGDFSLWLRPALRTDAGEYHATVRLPNRALSCS
LRLRVGQASMIASPSGVLKLSDWVLLNCSFSRPDRPVSVHWFQGGQNRVPVY
NSPRHFLAETFLLLPQVSPLDSGTWGCVLTYRDGFNVSITYNLKVLGLEPVAP
LTVYAAEGSRVELPCHLPPGVGTTPSLLIKWTPPGGGPELPVAGKSGNFTLHL
EAVGLAQAGTYTCSIHLQGGQQLNATVTLAVITVTPKSFGLPGSRGKLLCEVTP
ASGKERFVWRPLNNLSRSCPGPVLEIQEARLLAERWQCQLYEGQRLLGATVY
AAESSSGAHSARRISGDLKGGHLVLVLILGALSFLLVAGAFGFHWWRKQLL
LRRFSALEHGIQPFPAQRKIEELERELETEMGQEPEPEPEPQLEPEPRQL

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 丹麥商賽門弗鎮公司（SYMPHOGEN A/S）

<120> 抗LAG-3抗體及組成物

<140>

<141>

<150> US 62/407,678

<151> 2016-10-13

<160> 74

<170> PatentIn 第 3.5版

<210> 1

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 1

cagggtgcagc tgcagcagtg ggggtgccggt ctgctgaagc cttctgaaac tctgtctctg	60
acttgtgccg tctatgggtgg atcattcagc ggctactatt ggtcctggat caggcagccc	120
cctggcaagg gcctggagtg gatcggcgag atcaaccacc ggggctctac caactacaat	180
ccctctctga agagcagggt gaccatctcc gtggacacat ctaagaatca gttcagcctg	240
aagctgagct ccgtgaccgc cgctgataca gccgtgtact attgcacaag gggggaggaa	300
tgggagtcac tgttctttga ttactggggg caggggacac tggtcacagt ctcgagt	357

<210> 2

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 2

gaaatcgtcc tgaccagtc ccccgccacc ctgagcctga gccccggaga aagagccacc	60
ctgtcctgcc gagcaagcca gtccatcagc tcctatctcg cctggtatca gcagaaacca	120
ggccaggctc cccggctgct gatctacggc gcctccaaca gagctacagg aatcccagcc	180
cgcttcagcg gctccggctc tggcacagac ttaccctga caatctctag cctggagcct	240
gaggatttcg ccgtgtacta ttgccagcag agatctaatt ggccactgac attcggcggc	300
ggcacacggg tggagatcaa g	321

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

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 3															
Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Trp	Gly	Ala	Gly	Leu	Leu	Lys	Pro	Ser	Glu
1			5				10						15		
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Tyr	Gly	Gly	Ser	Phe	Ser	Gly	Tyr
			20					25					30		
Tyr	Trp	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35				40					45				
Gly	Glu	Ile	Asn	His	Arg	Gly	Ser	Thr	Asn	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys
	50					55				60					
Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu
65				70					75					80	
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr
				85				90						95	
Arg	Gly	Glu	Glu	Trp	Glu	Ser	Leu	Phe	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
		100					105						110		

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

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

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 4
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
 85 90 95

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

<210> 5
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源

<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 5	
caggttcagc tgcagcagtg gggcgccggc ctgctgagac caagcgagac cctgtccctg	60
acatgcgccg tgtatggcga gagcttctcc ggctattact ggaactggat ccggcagcct	120
cccggcaagg gcctggagtg gatcggcgag atcaatcact ccggctccac caattacaac	180
ccatccctga agtctcgggt gacaatcagc gtggatacaa gcaagaccca gttcagcctg	240
aagctgagct ccgtgacagc tgccgatacc gccgtgtatt actgcgccag aggctgggac	300
ctgctggatt ggaatgacta ctggaatgag tactggggcc aggggaccct ggtgaccgtc	360
tcgagt	366

- <210> 6
- <211> 321
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 6	
gagatcgtgc tgaccagtc ccctgccacc ctgtctctgt ccctggcga gcgggccacc	60
ctgtcctgta gagcttctca gtccgtgtct tctacctgg cttggtacca gcagaagcca	120
ggacaggccc caagactgct gatctatgac gcttccaatc gggctaccgg catcccagct	180
cgctttagcg gctccggctc cggcaccgac ttcacctga caatcagctc cctggagcca	240
gaggattttg ccgtgtatta ctgtcagcag aggtccaatt ggccactgac atttggcggc	300
ggcacaaagg ttgagatcaa g	321

- <210> 7
- <211> 122
- <212> PRT
- <213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 7
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Arg Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Glu Ser Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

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

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Gly Trp Asp Leu Leu Asp Trp Asn Asp Tyr Trp Asn Glu Tyr Trp
 100 105 110

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

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

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 8
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

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

<210> 9
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 9
caggttcagc tgcagcagtg gggcgctggc ctgctgaagc cctctgagac cctgtctctg 60

acctgtgccg tgtatggcgg cagcttctcc ggctattact ggaactggat ccgccagccc 120

cccggaagg gcctggagtg gatcggcgag atcaaccact ccggctctac caactacaat 180

ccttctctga agtccagggt gacaatcagc gtggacacca gcaagaacca gtttagcctg 240

aagctgtcca gcgtgacagc tgccgataca gccgtgtatt actgcgccag aggcgaggat 300

tggggcgaga gccttcttga ttactggggc caggggaccc tggtgaccgt ctcgagt 357

<210> 10
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 10
gagatcgtgc tgaccagtc cctgccacc ctgtctctgt cccctggcga gcgggccacc 60

ctgagctgtc gggccctcca gtccgtgagc tcctacctgg ctggtatca gcagaagcca 120

ggacaggccc caagactgct gatctacgcc gcttccaatc gggccaccgg catccccgcc 180

agattttccg gctctggctc cggcaccgat ttcaccctga caatcagctc cctggagcca 240

gaggacttcg ccgtgtacta ctgccagcag aggtctaatt ggccactgac atttggcggc 300

ggcaccaagg ttgagatcaa g 321

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

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

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

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

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

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Glu Asp Trp Gly Glu Ser Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

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

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 12
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

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

<210> 13
<211> 357
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 13

caggttcagc	tggtgcagtc	cggcgctgag	gtgaagaagc	ctggagcttc	tgtgaaggtt	60
tcctgtaagg	tttccggcta	tagcctgacc	gagatctcta	tgcactgggt	acggcaagcc	120
cccggcaagg	gcctggagtg	gatgggcggc	tttgaccag	aggatggcga	gaccatctac	180
gctcagaggt	ttcaggggcg	cgtgatcatg	accgaggata	ccagcaccga	taccgcctac	240
atggagctgt	ccagcctgag	atccgaggat	accgccgtgt	attactgcgc	tactggtggc	300
tggggcccca	attggttcga	tccttggggc	caggggaccc	tggtgaccgt	ctcgagt	357

<210> 14

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 14

gacatccaga	tgacacagtc	tccttcctct	gtgagcgctt	ctgtgggcga	ccgcgtgacc	60
atcacatgcc	gcgcttccca	ggggatctct	tcctggctgg	cttggtagca	gcagaagccc	120
ggcaaggccc	ccaagctgct	gatctatgct	gccagcagcc	tgagtcagg	cgtgccttcc	180
aggtttagcg	gctccggctc	cggcaccgac	tttacctga	caatcagctc	cctgcagccc	240
gaggattttg	ccacctatta	ctgtcagcag	gcgaattcct	tcctttttac	attcggccct	300
ggcaccaagg	ttgatataaa					321

<210> 15

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> 來源

<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

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

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

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

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

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

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

Ala Thr Gly Gly Trp Gly Pro Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

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

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 16
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

	20		25		30	
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys
35						40
Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
45						
Leu	Ile					
Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln
50						55
Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe
60						
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe
65						70
Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu
75						80
Gln	Pro					
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr
85						
Cys	Gln	Gln	Ala	Asn	Ser	Phe
90						95
Pro	Phe					
Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys
100						105
Val	Asp	Ile	Lys			
<210> 17						
<211> 363						
<212> DNA						
<213> 人工序列						
<220>						
<221> 來源						
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"						
<400> 17						
caggttcagc	tgcagcagtc	cggccccggc	ctggtgaagc	caagccagac	cctgtctctg	60
acatgcgcc	tctccggcga	cagcgtgtcc	tctaactccg	ccgcttgga	ttggatccgg	120
cagtcctcat	ccagaggcct	ggagtggctg	ggcagaacct	attaccggtc	caagtggtag	180
aacgattatg	ccgtgtccgt	gaagagcaga	atcaccatca	acctgatac	cagcaagaac	240
cagttcagcc	tgcagctgaa	tccctgacc	ccagaggata	cagccgtgta	ttactgtgct	300
agggacgatg	attggaatga	cttcgattac	tggggccagg	ggaccttgg	gacagtctcg	360
agt						363

<210> 18
<211> 321

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 18
gagatcgtgc tgacccagtc cccagctaca ctgtccctgt ctcccggcga gcgggccacc 60

ctgagctgta gagcttccca gtccgtgtct tcctatctgg cttggtatca gcagaagcca 120

ggacaggccc caaggctgct gatctacgac gcctccaata gagccaccgg catcccagct 180

agattttctg gctccggctc cggcaccgat ttcacactga ccatctctag cctggagcca 240

gaggattttg ctgtatatta ctgccagcag cgcagcaact ggcccctgac atttggcggc 300

ggcaccaagg ttgagatcaa g 321

<210> 19
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 19
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

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

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 20
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu
85 90 95

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

<210> 21
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 21
cagctgcagc tgcaggaaag cggccccggc ctggtgaagc cctctgagac cctgtccctg 60

acatgcaccg tgagcggcga ttccatcagc tcttccagct attactgggg ctggatccgg 120

cagccccccg gcaagggcct ggagtggatc ggcagcatct tctactccgg caatacatat 180

tataatcctt ctctgaagag cagggtgaca atcagcgtgg atacctcaa gaatcagttt 240

agcctgaagc tgagctccgt gacagctgcc gatacagccg tgtattactg cgctagggag 300

gacgattttc tgaccgatta ttacggcgct ttcgacatct ggggccaggg gacaatggtg 360

acagtctcga gt 372

<210> 22
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 22
gatatccaga tgaccagtc tccaagcacc ctgagcgct ctgtgggcga tcgggtgacc 60

atcacatgtc gggcttctca gtccatcagc agctggctgg cttggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggccc caaagctgct gatctacaag gcctcttcca gcgagagcgg cgtgccatcc 180

aggtttagcg gctccggctc cggcaccgag ttaccctga ccctctcttc cctgcagccc 240

gatgactttg ccacctacta ctgtcagcag tacaattcct atctgacatt cggcggcggc 300

accaaggttg agatcaag 318

<210> 23

<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 23
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

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

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

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Glu Asp Asp Phe Leu Thr Asp Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp
 100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 24
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 24
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 25
<211> 375
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 25
gaggtgcagc tgctggaatc cggaggagga ctggtccagc caggtggatc cctgcgactg 60

agctgcgccg cttctggcct cgactttaga agctacgcaa tgatgtgggt ccgccaggca 120

ccaggaaagg gactggagtg ggtgggaggg atcaacggtg aagtcggtgg ctctaataca 180

tactatgcac ctgccgtcaa gggaagggt actattagtc gggacaactc aaaaaatacc 240

ctgtatctgc aaatgaacag tctgagggcc gaggataccg ccgtgtacta ttgcgtgaaa 300

ggtgctggcg catgcggcat ctgtaatgac gatattgatg catggggaca ggggaccctg 360

gtgacagtct cgagt

375

<210> 26
<211> 330
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 26
agttatgagc tgactcagga cccagcagtg tcagtcgccc tgggccagac agtgagaatc 60

acttgcagtg gggctggttc atatgcaggc tcctactatt acggatggca ccagcagaag 120

cccggaacagg cacctgtgac agtcatctac gacaacgata aaaggccaag caatattccc 180

gaccggttct ctgggtccag ctctggtaac accgcctccc tgaccattac tggggcccag 240

gctgaggacg aagctgatta ttactgtggc tctacaaacg ataatgacga tggcggactg 300

tttggctccg gaactaaggt caccgtccta 330

<210> 27
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 27
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Gly Gly Ile Asn Gly Glu Val Gly Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Pro

50	55	60
Ala Val Lys Gly Arg	Ala Thr Ile Ser Arg	Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65	70	7580
Leu Tyr Leu Gln Met	Asn Ser Leu Arg Ala Glu	Asp Thr Ala Val Tyr
	85	9095
Tyr Cys Val Lys Gly	Ala Gly Ala Cys Gly	Ile Cys Asn Asp Asp Ile
	100	105110
Asp Ala Trp Gly Gln	Gly Thr Leu Val Thr	Val Ser Ser
	115	120125
<210> 28		
<211> 110		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 來源		
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"		
<400> 28		
Ser Tyr Glu Leu Thr	Gln Asp Pro Ala Val	Ser Val Ala Leu Gly Gln
1	5	1015
Thr Val Arg Ile Thr	Cys Ser Gly Ala Gly	Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr
	20	2530
Tyr Tyr Gly Trp His	Gln Gln Lys Pro Gly	Gln Ala Pro Val Thr Val
	35	4045
Ile Tyr Asp Asn Asp	Lys Arg Pro Ser Asn	Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50	55	60
Gly Ser Ser Ser Gly	Asn Thr Ala Ser Leu	Thr Ile Thr Gly Ala Gln
65	70	7580
Ala Glu Asp Glu Ala	Asp Tyr Tyr Cys Gly	Ser Thr Asn Asp Asn Asp

85	90	95
Asp Gly Gly Leu Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu		
100	105	110
<210> 29		
<211> 990		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<221> 來源		
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"		
<400> 29		
gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcacctt cctccaagag cacctctggg	60	
ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtcg	120	
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca	180	
ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc	240	
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc	300	
aatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc cgcgggggga	360	
ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaacc aaggacacc tcatgatctc ccggaccctt	420	
gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg	480	
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac	540	
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtccctgcacc aggactggct gaatggcaag	600	
gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc	660	
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacacc tgccccatc ccgggaggag	720	
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc	780	
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg	840	
ctggactccg acggctcctt ctctctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcagggtg	900	
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg	960	
cagaagagcc tctccctgtc cccgggtaaa	990	

<210> 30
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 30
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

- <210> 31
- <211> 318
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"

<400> 31
ggccagccca aggccaacc cactgtcact ctgttccgc ctcctctga ggagctccaa 60

gccaacaagg ccacactagt gtgtctgac agtgacttct acccgggagc tgtgacagtg 120

gcctggaagg cagatggcag ccccgtaag gcgggagtgg agaccaccaa accctccaaa 180

cagagcaaca acaagtacgc ggccagcagc tacctgagcc tgacgcccgga gcagtggaag 240

tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg 300

gcccctacag aatgttca 318

<210> 32
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的多肽"

<400> 32
Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

	85	90	95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser			
	100	105	
<210>	33		
<211>	321		
<212>	DNA		
<213>	人工序列		
<220>			
<221>	來源		
<223>	/註記="人工序列之描述：合成的聚核苷酸"		
<400>	33		
cgtacggtgg	ctgcaccatc	tgtcttcac	ttcccccat
ctgatgagca	gttgaaatct	60	
ggaactgcct	ctgttgtgtg	cctgctgaat	aactttctatc
ccagagaggc	caaagtacag	120	
tggaaggtgg	ataacgccct	ccaatcgggt	aactcccagg
agagtgtcac	agagcaggac	180	
agcaaggaca	gcacctacag	cctcagcagc	accctgacgc
tgagcaaagc	agactacgag	240	
aaacacaaag	tctacgcctg	cgaagtcacc	catcagggcc
tgagctcgcc	cgtcacaag	300	
agcttcaaca	ggggagagtg	t	321
<210>	34		
<211>	107		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<221>	來源		
<223>	/註記="人工序列之描述：合成的多肽"		
<400>	34		
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu			
1	5	10	15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe			
20	25	30	
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln			
35	40	45	

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

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

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 35
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 35
Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 36
Ile Asn His Arg Gly Ser Thr
1 5

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 37
Cys Thr Arg Gly Glu Glu Trp Glu Ser Leu Phe Phe Asp Tyr Trp
1 5 10 15

<210> 38
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 38
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 39
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 39
Gly Ala Ser
1

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 40
Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 41
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 41
Gly Glu Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 42
Ile Asn His Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 43
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 43
Cys Ala Arg Gly Trp Asp Leu Leu Asp Trp Asn Asp Tyr Trp Asn Glu
1 5 10 15

Tyr Trp

<210> 44
<211> 6

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 44
Gln Ser Val Ser Ser Tyr
1 5

<210> 45
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 45
Asp Ala Ser
1

<210> 46
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 46
Cys Ala Arg Gly Glu Asp Trp Gly Glu Ser Phe Phe Asp Tyr Trp
1 5 10 15

<210> 47
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 47

Ala Ala Ser
1

<210> 48
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 48
Gly Tyr Ser Leu Thr Glu Ile Ser
1 5

<210> 49
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 49
Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr
1 5

<210> 50
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 50
Cys Ala Thr Gly Gly Trp Gly Pro Asn Trp Phe Asp Pro Trp
1 5 10

<210> 51
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 51
Gln Gly Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 52
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 52
Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr Phe
1 5 10

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 53
Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala
1 5

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 54
Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp
1 5

<210> 55
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 55
Cys Ala Arg Asp Asp Asp Trp Asn Asp Phe Asp Tyr Trp
1 5 10

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 56
Gly Asp Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr
1 5 10

<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 57
Ile Phe Tyr Ser Gly Asn Thr
1 5

<210> 58
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 58
Cys Ala Arg Glu Asp Asp Phe Leu Thr Asp Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp
1 5 10 15

Ile Trp

<210> 59
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 59
Gln Ser Ile Ser Ser Trp
1 5

<210> 60
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 60
Lys Ala Ser
1

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 61

Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 62
Gly Phe Asp Phe Arg Ser Tyr Ala
1 5

<210> 63
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 63
Ile Asn Gly Glu Val Gly Gly Ser Asn Thr
1 5 10

<210> 64
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 64
Cys Val Lys Gly Ala Gly Ala Cys Gly Ile Cys Asn Asp Asp Ile Asp
1 5 10 15

Ala Trp

<210> 65
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 65
Gly Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr
1 5

<210> 66
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 66
Asp Asn Asp
1

<210> 67
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 67
Cys Gly Ser Thr Asn Asp Asn Asp Asp Gly Gly Leu Phe
1 5 10

<210> 68
<211> 525
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68
Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
85 90 95

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln
115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala
130 135 140

Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys
145 150 155 160

Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro
165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser
180 185 190

Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln
195 200 205

Gly	Arg	Val	Pro	Val	Arg	Glu	Ser	Pro	His	His	His	Leu	Ala	Glu	Ser	
210						215						220				
Phe	Leu	Phe	Leu	Pro	Gln	Val	Ser	Pro	Met	Asp	Ser	Gly	Pro	Trp	Gly	
225					230					235					240	
Cys	Ile	Leu	Thr	Tyr	Arg	Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Met	Tyr	Asn	
				245					250					255		
Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Glu	Pro	Pro	Thr	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	
			260					265						270		
Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Pro	Ala	Gly	Val	
		275						280					285			
Gly	Thr	Arg	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	
	290					295					300					
Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Thr	Gly	Asp	Asn	Gly	Asp	Phe	Thr	Leu	Arg	Leu	
305					310					315					320	
Glu	Asp	Val	Ser	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	His	Ile	His	
				325					330					335		
Leu	Gln	Glu	Gln	Gln	Leu	Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Ile	Ile	Thr	
			340					345						350		
Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly	Lys	Leu	Leu	
		355						360					365			
Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Val	Ser	Gly	Gln	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Ser	Ser	
		370					375					380				
Leu	Asp	Thr	Pro	Ser	Gln	Arg	Ser	Phe	Ser	Gly	Pro	Trp	Leu	Glu	Ala	
385					390					395					400	
Gln	Glu	Ala	Gln	Leu	Leu	Ser	Gln	Pro	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Gln	
				405					410					415		

Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr Glu Leu Ser Ser
420 425 430

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly
435 440 445

His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu
450 455 460

Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg Gln Trp Arg Pro
465 470 475 480

Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro Pro Gln Ala Gln
485 490 495

Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
500 505 510

Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln Leu
515 520 525

<210> 69
<211> 533
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<220>
<221> MOD_RES
<222> (74)..(74)
<223> 任何胺基酸

<400> 69
Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Pro Gln Pro Gly Ala Glu Ile Ser Val Val
20 25 30

Trp	Ala	Gln	Glu	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Leu	Pro	Cys	Ser	Pro	Thr	Ile
35				40				45							
Pro	Leu	Gln	Asp	Leu	Ser	Leu	Leu	Arg	Arg	Ala	Gly	Val	Thr	Trp	Gln
50				55				60							
His	Gln	Pro	Asp	Ser	Gly	Pro	Pro	Ala	Xaa	Ala	Pro	Gly	His	Pro	Pro
65				70				75				80			
Val	Pro	Gly	His	Arg	Pro	Ala	Ala	Pro	Tyr	Ser	Trp	Gly	Pro	Arg	Pro
85				90				95							
Arg	Arg	Tyr	Thr	Val	Leu	Ser	Val	Gly	Pro	Gly	Gly	Leu	Arg	Ser	Gly
100				105				110							
Arg	Leu	Pro	Leu	Gln	Pro	Arg	Val	Gln	Leu	Asp	Glu	Arg	Gly	Arg	Gln
115				120				125							
Arg	Gly	Asp	Phe	Ser	Leu	Trp	Leu	Arg	Pro	Ala	Arg	Arg	Ala	Asp	Ala
130				135				140							
Gly	Glu	Tyr	Arg	Ala	Thr	Val	His	Leu	Arg	Asp	Arg	Ala	Leu	Ser	Cys
145				150				155				160			
Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Val	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Thr	Ala	Ser	Pro	Pro
165				170				175							
Gly	Ser	Leu	Arg	Thr	Ser	Asp	Trp	Val	Ile	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser
180				185				190							
Arg	Pro	Asp	Arg	Pro	Ala	Ser	Val	His	Trp	Phe	Arg	Ser	Arg	Gly	Gln
195				200				205							
Gly	Arg	Val	Pro	Val	Gln	Gly	Ser	Pro	His	His	His	Leu	Ala	Glu	Ser
210				215				220							
Phe	Leu	Phe	Leu	Pro	His	Val	Gly	Pro	Met	Asp	Ser	Gly	Leu	Trp	Gly
225				230				235				240			

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn
245 250 255

Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Ala Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala
260 265 270

Gly Ala Gly Ser Arg Val Glu Leu Pro Cys Arg Leu Pro Pro Ala Val
275 280 285

Gly Thr Gln Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Ala Pro Pro Gly Gly Gly
290 295 300

Pro Asp Leu Leu Val Ala Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu
305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Ile Cys His Ile Arg
325 330 335

Leu Gln Gly Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr
340 345 350

Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu
355 360 365

Cys Glu Val Thr Pro Ala Ser Gly Gln Glu His Phe Val Trp Ser Pro
370 375 380

Leu Asn Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala
385 390 395 400

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu His Gln
405 410 415

Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr Glu Leu Ser Ser
420 425 430

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Arg Ala Gly
435 440 445

His Leu Pro Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Phe Leu Leu Leu Leu
450 455 460

Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg Gln Trp Arg Pro
465 470 475 480

Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro Pro Gln Ala Gln
485 490 495

Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Leu Glu Pro Glu Pro
500 505 510

Glu Leu Glu Arg Glu Leu Gly Pro Glu Pro Glu Pro Gly Pro Glu Pro
515 520 525

Glu Pro Glu Gln Leu
530

<210> 70
<211> 525
<212> PRT
<213> 大鼠

<400> 70
Met Arg Gln Asp Leu Phe Leu Asp Leu Leu Leu Leu Gln Leu Leu Trp
1 5 10 15

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Ser Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Glu Phe
35 40 45

Pro His Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Trp Val Thr Trp Gln
50 55 60

His	Arg	Pro	Asp	Ser	Asp	Gln	Pro	Ala	Ser	Ile	Pro	Ala	Leu	Asp	Leu
65					70				75					80	
Leu	Gln	Gly	Met	Pro	Ser	Thr	Arg	Arg	His	Pro	Pro	His	Arg	Tyr	Thr
			85						90					95	
Val	Leu	Ser	Val	Ala	Pro	Gly	Gly	Leu	Arg	Ser	Gly	Arg	Gln	Pro	Leu
			100					105					110		
Leu	Ser	His	Val	Gln	Leu	Glu	Lys	Arg	Gly	Pro	Gln	Arg	Gly	Asp	Phe
		115					120				125				
Ser	Leu	Trp	Leu	Arg	Pro	Ala	Thr	Arg	Lys	Asp	Ala	Gly	Glu	Tyr	His
	130					135					140				
Ala	Phe	Val	Arg	Leu	Pro	Asp	Arg	Asp	Phe	Ser	Cys	Ser	Leu	Arg	Leu
145					150					155					160
Arg	Val	Gly	Gln	Ala	Ser	Met	Ile	Ala	Ser	Pro	Pro	Gly	Thr	Leu	Lys
			165						170					175	
Pro	Ser	Asp	Trp	Val	Ile	Leu	Asn	Cys	Ser	Phe	Ser	Arg	Pro	Asp	Arg
		180						185					190		
Pro	Val	Ser	Val	His	Trp	Phe	Gln	Gly	Gln	Ser	Arg	Val	Pro	Val	His
		195					200					205			
Asn	Ser	Pro	Arg	His	Tyr	Leu	Ala	Glu	Ser	Phe	Leu	Leu	Leu	Pro	Gln
	210					215					220				
Val	Ser	Pro	Leu	Asp	Ser	Gly	Thr	Trp	Gly	Cys	Val	Leu	Thr	Tyr	Arg
225				230					235						240
Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Thr	Tyr	Asn	Leu	Lys	Val	Gln	Gly	Leu
		245							250				255		
Glu	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	Ala	Glu	Gly	Ser	Arg	Val
		260						265				270			

Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Val Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu
275 280 285

Ile Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly Pro Glu Leu Pro Val Thr
290 295 300

Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu Gln Leu Glu Asn Val Gly Arg Ala
305 310 315 320

Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Arg Gln Leu
325 330 335

Ser Ala Ala Val Thr Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe
340 345 350

Gly Leu Pro Gly Ser Pro Gln Lys Leu Leu Cys Glu Val Val Pro Ala
355 360 365

Ser Gly Glu Gly Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Ser Asp Leu Ser Arg
370 375 380

Ser Ser Leu Gly Pro Val Leu Glu Leu Gln Glu Ala Lys Leu Leu Ala
385 390 395 400

Glu Gln Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Lys Leu Leu Gly Ala
405 410 415

Thr Val Tyr Thr Ala Glu Ser Ser Ser Gly Ala Trp Ser Ala Lys Arg
420 425 430

Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Phe Leu Ser Leu Ile Leu
435 440 445

Gly Ala Leu Ala Leu Phe Leu Leu Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His
450 455 460

Leu Trp Arg Arg Gln Leu Leu Arg Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu His
465 470 475 480

Gly Ile Arg Pro Pro Pro Val Gln Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Arg
485 490 495

Glu Pro Glu Thr Glu Met Glu Pro Glu Thr Glu Pro Asp Pro Glu Pro
500 505 510

Gln Pro Glu Pro Glu Leu Glu Pro Glu Ser Arg Gln Leu
515 520 525

<210> 71
<211> 476
<212> PRT
<213> 犬

<400> 71
Met Trp Glu Val Gln Phe Leu Val Leu Leu Leu Leu Gln Leu Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Ala Ala Pro Gly Ser Gly Thr Glu Val Gln Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
35 40 45

Pro Leu Gln Asp Val Ser Leu Leu Arg Asn Ala Gly Val Thr Trp Tyr
50 55 60

His Leu Pro Glu Ser Gly Pro Ala Ala Pro Ala Leu Ser Leu Arg Pro
65 70 75 80

Ala Ala Pro Ser Ala Arg Gly Pro Gly Pro Arg Ser Tyr Val Val Leu
85 90 95

Met Arg Ala Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly Leu Val Pro Thr Val Asn
100 105 110

Ala	Leu	Ala	Leu	Asn	Ser	Pro	Gly	Pro	Thr	Arg	Phe	Ser	Leu	Ala	Leu
115				120				125							
Gln	Thr	Val	Ile	Ser	Leu	Pro	His	Ser	Trp	Leu	Phe	Pro	Gly	Pro	Ser
130				135				140							
Ser	Leu	Pro	Gly	Gln	Pro	Leu	Ala	Ser	Cys	Trp	Pro	Ser	Pro	His	Val
145				150				155				160			
Gly	Val	Gly	Cys	Val	Cys	Glu	His	Pro	Pro	Phe	Ile	His	Leu	Thr	Leu
165				170				175							
Leu	Pro	Ala	Arg	Gln	Ser	Pro	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Pro	Ser	Leu	Gln
180				185				190							
Pro	Gln	Cys	Ser	Ala	Ser	Leu	Tyr	Leu	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Thr	Leu
195				200				205							
Ala	Ser	Ser	Phe	Pro	Gly	Leu	Glu	Pro	Ser	Gly	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr
210				215				220							
Thr	Gly	Ala	Gly	Ser	Arg	Val	Gly	Leu	Pro	Cys	Arg	Leu	Pro	Pro	Gly
225				230				235				240			
Val	Gly	Thr	Gln	Ser	Phe	Leu	Thr	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly
245				250				255							
Gly	Pro	Asp	Leu	Leu	Val	Ala	Gly	Asp	Asp	Gly	Asn	Phe	Thr	Leu	Gln
260				265				270							
Leu	Glu	Val	Val	Asn	Gln	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	His	Ile
275				280				285							
His	Leu	Gln	Gly	Gln	Gln	Leu	Ser	Thr	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Val	Ile
290				295				300							
Thr	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Ser	Gly	Leu	Pro	Gly	Asn	Leu	Arg	Lys	Leu
305				310				315				320			

Leu Cys Glu Val Thr Pro Ala Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser
325 330 335

Pro Leu Asp Lys Gln Ser Trp Arg Gly Ser Pro Gly Pro Cys Leu Glu
340 345 350

Met Gln Glu Thr Arg Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys His Val Tyr
355 360 365

Gln Ala Glu Arg Leu Leu Gly Thr Ala Val Tyr Leu Ile Asp Pro Ala
370 375 380

Gly Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Gln Gly Val Leu Lys Thr
385 390 395 400

Gly His Leu Ser Leu Leu Leu Ile Leu Gly Ile Leu Phe Leu Leu Leu
405 410 415

Leu Met Thr Gly Ala Phe Gly Phe Gln Leu Trp Arg Arg Gln Trp Arg
420 425 430

Pro Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Leu Gly Thr His Pro Pro Gln Ala
435 440 445

Gln Ser Lys Ile Gly Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Leu Glu Leu Glu
450 455 460

Pro Glu Pro Glu Leu Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu
465 470 475

<210> 72
<211> 521
<212> PRT
<213> 小家鼠

<400> 72
Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp
1 5 10 15

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val
20 25 30

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

Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln
50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Gln Pro Thr Pro Ile Pro Ala Leu Asp Leu
65 70 75 80

His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr
85 90 95

Val Leu Ser Val Ala Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly Arg Gln Pro Leu
100 105 110

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe
115 120 125

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His
130 135 140

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu
145 150 155 160

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys
165 170 175

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg
180 185 190

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr
195 200 205

Asn	Ser	Pro	Arg	His	Phe	Leu	Ala	Glu	Thr	Phe	Leu	Leu	Leu	Pro	Gln
210						215					220				
Val	Ser	Pro	Leu	Asp	Ser	Gly	Thr	Trp	Gly	Cys	Val	Leu	Thr	Tyr	Arg
225					230				235					240	
Asp	Gly	Phe	Asn	Val	Ser	Ile	Thr	Tyr	Asn	Leu	Lys	Val	Leu	Gly	Leu
			245					250						255	
Glu	Pro	Val	Ala	Pro	Leu	Thr	Val	Tyr	Ala	Ala	Glu	Gly	Ser	Arg	Val
		260					265						270		
Glu	Leu	Pro	Cys	His	Leu	Pro	Pro	Gly	Val	Gly	Thr	Pro	Ser	Leu	Leu
	275					280						285			
Ile	Ala	Lys	Trp	Thr	Pro	Pro	Gly	Gly	Gly	Pro	Glu	Leu	Pro	Val	Ala
290					295					300					
Gly	Lys	Ser	Gly	Asn	Phe	Thr	Leu	His	Leu	Glu	Ala	Val	Gly	Leu	Ala
305				310					315					320	
Gln	Ala	Gly	Thr	Tyr	Thr	Cys	Ser	Ile	His	Leu	Gln	Gly	Gln	Gln	Leu
			325					330					335		
Asn	Ala	Thr	Val	Thr	Leu	Ala	Val	Ile	Thr	Val	Thr	Pro	Lys	Ser	Phe
		340					345						350		
Gly	Leu	Pro	Gly	Ser	Arg	Gly	Lys	Leu	Leu	Cys	Glu	Val	Thr	Pro	Ala
	355					360					365				
Ser	Gly	Lys	Glu	Arg	Phe	Val	Trp	Arg	Pro	Leu	Asn	Asn	Leu	Ser	Arg
370					375					380					
Ser	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Leu	Glu	Ile	Gln	Glu	Ala	Arg	Leu	Leu	Ala
385				390					395					400	
Glu	Arg	Trp	Gln	Cys	Gln	Leu	Tyr	Glu	Gly	Gln	Arg	Leu	Leu	Gly	Ala
			405					410						415	

Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg
420 425 430

Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Val Leu Val Leu Ile Leu
435 440 445

Gly Ala Leu Ser Leu Phe Leu Leu Val Ala Gly Ala Phe Gly Phe His
450 455 460

Trp Trp Arg Lys Gln Leu Leu Leu Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu His
465 470 475 480

Gly Ile Gln Pro Phe Pro Ala Gln Arg Lys Ile Glu Glu Leu Glu Arg
485 490 495

Glu Leu Glu Thr Glu Met Gly Gln Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
500 505 510

Gln Leu Glu Pro Glu Pro Arg Gln Leu
515 520

<210> 73
<211> 6
<212> PRT
<213> 未知

<220>
<221> 來源
<223> /註記="未知之描述：LAG-3 模體"

<400> 73
Lys Ile Glu Glu Leu Glu
1 5

<210> 74
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<221> 來源
<223> /註記="人工序列之描述：合成的肽"

<400> 74
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種抗LAG-3抗體或其抗原結合部分，其中所述抗體包含分別為SEQ ID NO: 41、42、43、44、45和40之H-CDR1-3和L-CDR1-3胺基酸序列。

【第2項】如請求項1之抗LAG-3抗體或抗原結合部分，其中所述抗體包含分別具有SEQ ID NO: 7和8的胺基酸序列之重鏈可變域和輕鏈可變域。

【第3項】如請求項1之抗LAG-3抗體或抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分有至少一種選自以下者的特性：

- a) 以流式細胞術競爭分析來測定，在20 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度，相較於負對照組抗體，將人類LAG-3對於A375細胞上的人類第II型MHC的結合減少超過85%；
- b) 以流式細胞術競爭分析來測定，在20 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度，相較於負對照組抗體，將人類LAG-3對於A375細胞上的人類第II型MHC的結合減少至35%和85%之間；
- c) 阻斷在Jurkat細胞上表現的人類LAG-3與在Raji細胞上表現的人類第II型MHC之間的結合；
- d) 以流式細胞測量術來測量，結合至人類LAG-3之 EC_{50} 為0.1 nM或更少；
- e) 以流式細胞測量術來測量，結合至食蟹獼猴LAG-3之 EC_{50} 為0.3 nM或更少；
- f) 以表面電漿共振來測量，結合至人類LAG-3之 K_D 為 3.0×10^{-8} M或更少；
- g) 以表面電漿共振來測量，結合至食蟹獼猴LAG-3之 K_D 為 1.5×10^{-7} M或更少；
- h) 以表面電漿共振來測量，結合至小鼠LAG-3之 K_D 為 3.5×10^{-8} M或更

少；

- i) 刺激經葡萄球菌 (*Staphylococcal*) 腸毒素B (SEB) 處理之人類周圍血液單核細胞 (PBMC) 中的IL-2產生；
- j) 減少人類T細胞中的LAG-3之細胞水平；
- k) 減少人類T細胞之培養物中的LAG-3之可溶性水平；
- l) 誘導活體內腫瘤生長退化；
- m) 延緩活體內腫瘤生長；以及
- n) 不會與抗體25F7-Lag3.5結合至相同的人類LAG-3之表位。

【第4項】如請求項1之抗LAG-3抗體或抗原結合部分，其中(1)該抗體為IgG同型之亞型IgG₁且在位置234和235的胺基酸殘基之一者或兩者從Leu突變為Ala，或(2)該抗體為IgG同型之亞型IgG₄且在位置228的胺基酸殘基從Ser突變為Pro。

【第5項】一種抗LAG-3抗體，其包含具有SEQ ID NO: 7和30之胺基酸序列的重鏈以及具有SEQ ID NO: 8和34之胺基酸序列的輕鏈。

【第6項】一種醫藥組成物，其包含根據請求項1-5中任一項之抗LAG-3抗體或抗原結合部分以及醫藥上可接受的賦形劑。

【第7項】一種經分離的核酸分子，其包含編碼如請求項1-5中任一項之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的重鏈序列之核苷酸序列、或編碼如請求項1-5中任一項之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的輕鏈序列之核苷酸序列或兩者。

【第8項】一種載體，其包含如請求項7之經分離的核酸分子，其中所述載體進一步包含表現控制序列。

【第9項】一種宿主細胞，其包含編碼如請求項1-5中任一項之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的重鏈序列之核苷酸序列以及編碼如請求項1-5中任一項之抗LAG-3抗體或抗原結合部分的輕鏈序列之核苷酸序列。

【第10項】一種製造抗LAG-3抗體或其抗原結合部分之方法，其包含提供根據請求項9之宿主細胞，在適合表現該抗體或部分的條件下培養所述宿主細胞，以及分離所產生的抗體或部分。

【第11項】一種雙特異性結合分子，其包含根據請求項1-5中任一項之抗LAG-3抗體的抗原結合部分。

【第12項】一種如請求項1-5中任一項之抗體或抗原結合部分之用途，其係用於製造用於治療患有LAG-3相關病症的患者或用於增強有需要之患者的免疫力的醫藥品。

【第13項】一種如請求項1-5中任一項之抗體或抗原結合部分之用途，其係用於製造用於治療患者之癌症的醫藥品。

【第14項】如請求項13之用途，其中所述癌症係選自：纖維肉瘤、非小細胞肺癌、黑色素瘤、神經膠質母細胞瘤、神經膠肉瘤及結腸直腸癌。

【第15項】如請求項13或14之用途，其中所述治療進一步包含免疫刺激劑、疫苗、化學治療劑、抗腫瘤劑、抗血管生成劑、酪胺酸激酶抑制劑、LAG-3途徑抑制劑或輻射療法、視網酸、苯基丁酸鹽、全反式視網酸或維生素D。

【發明圖式】

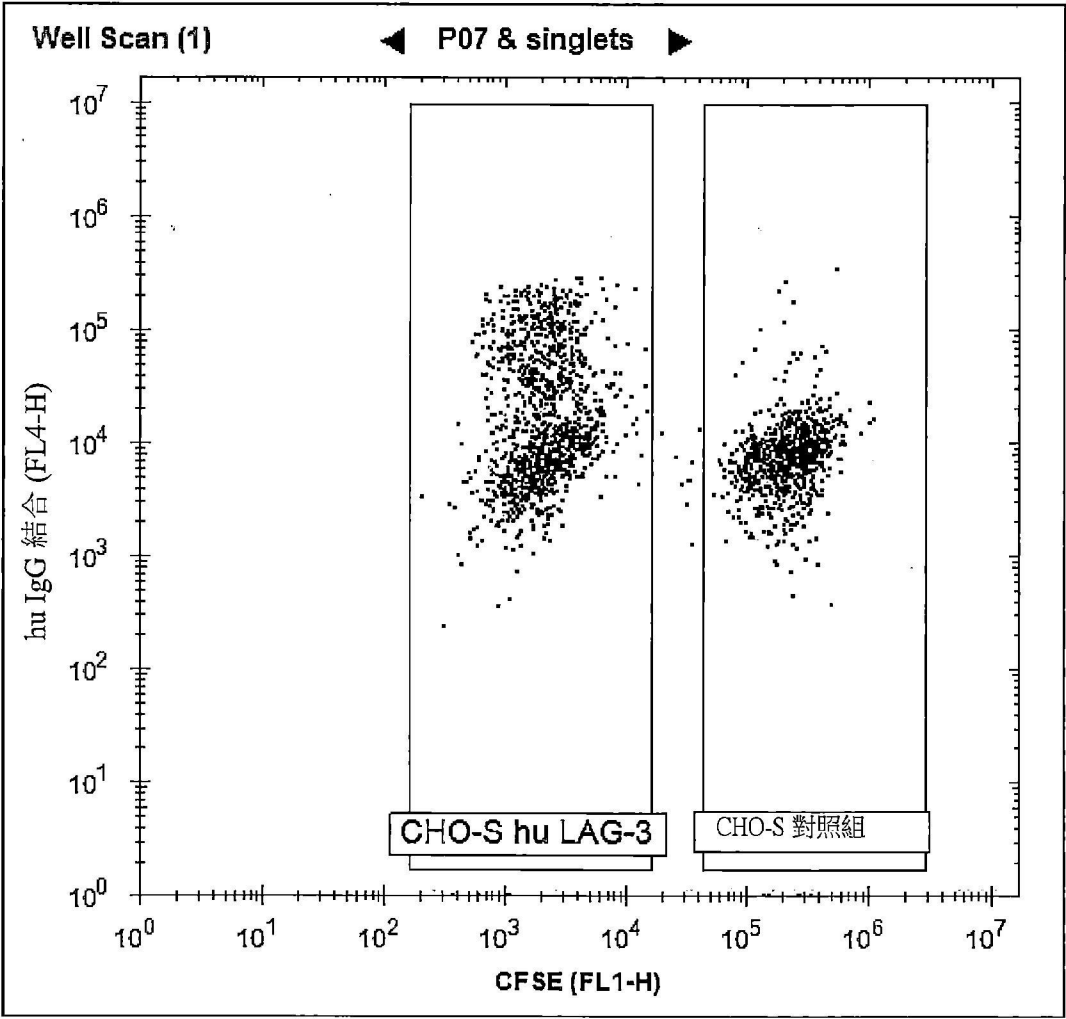


圖1A

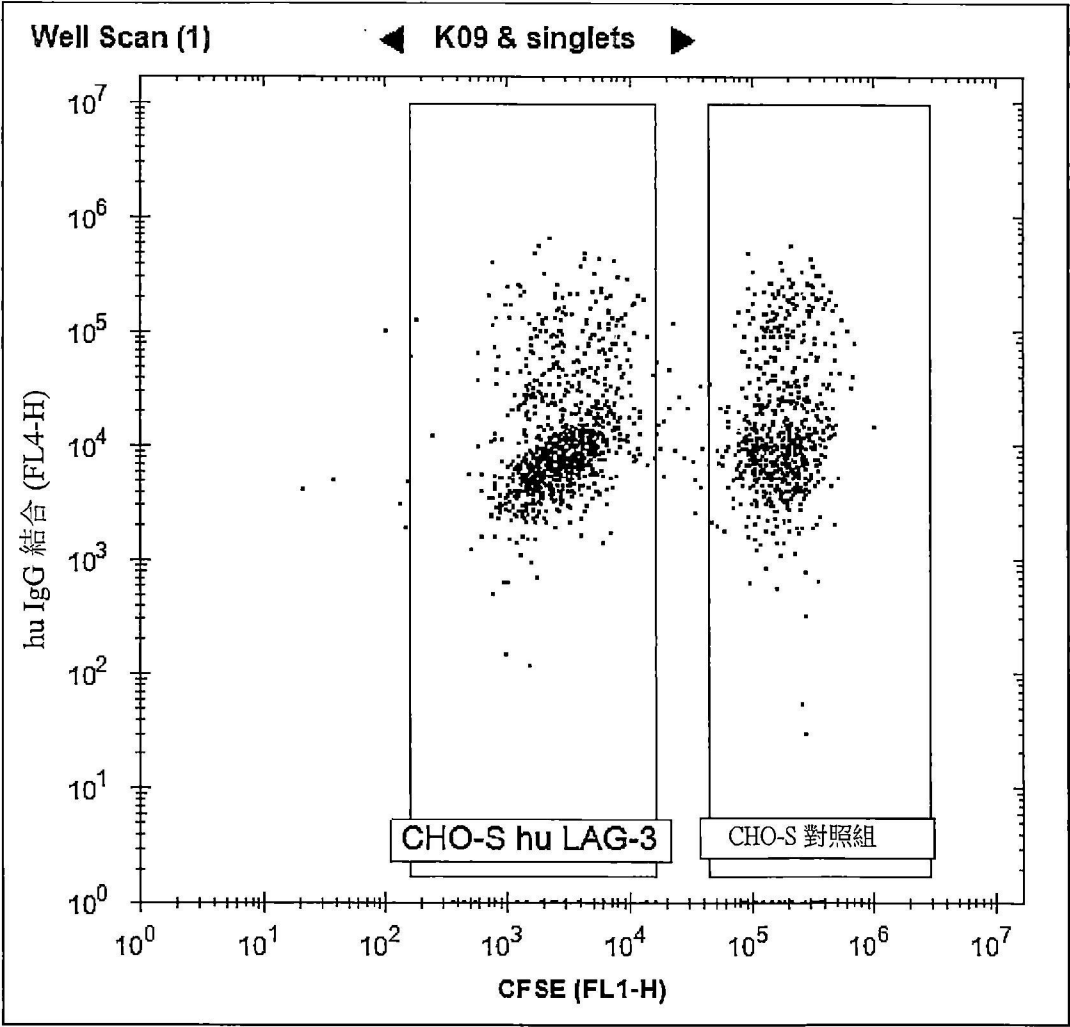


圖1B

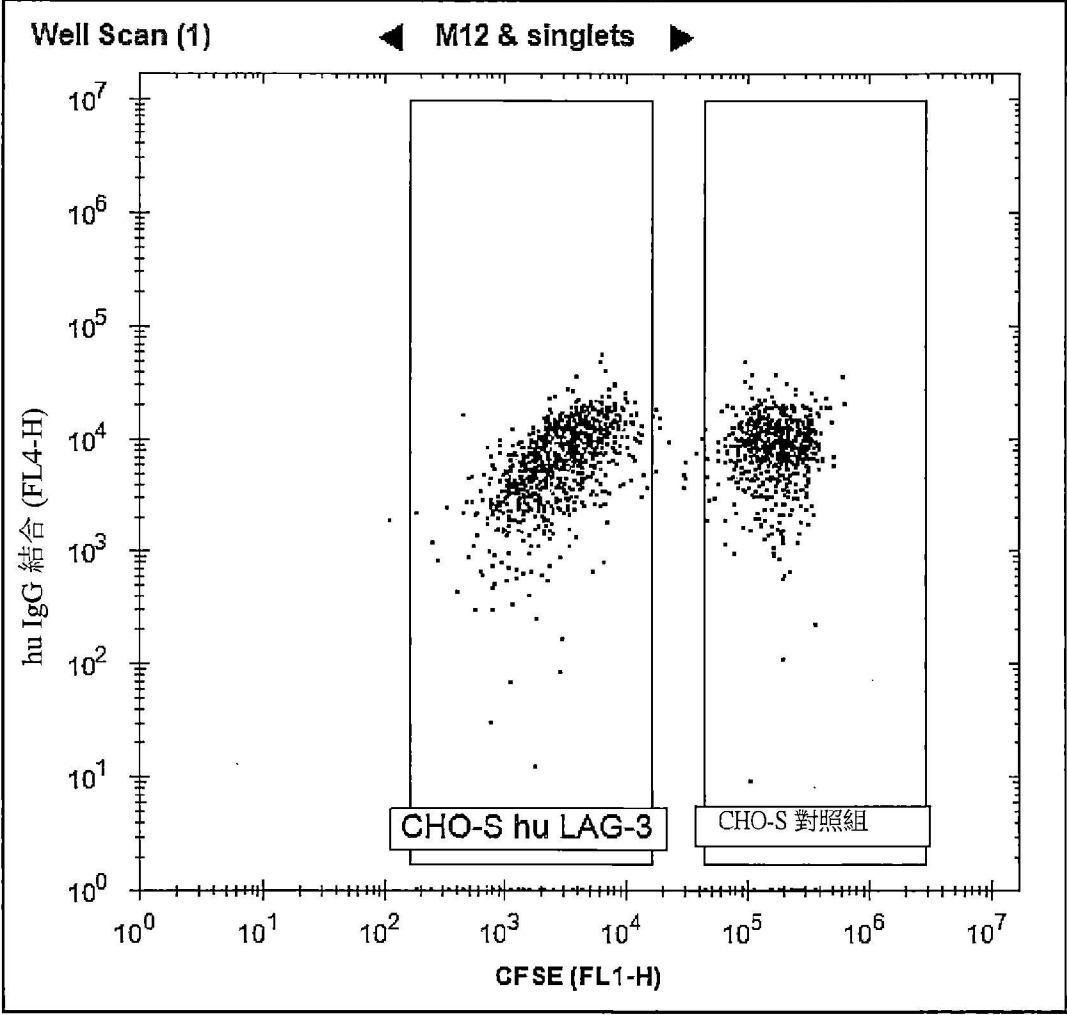


圖1C

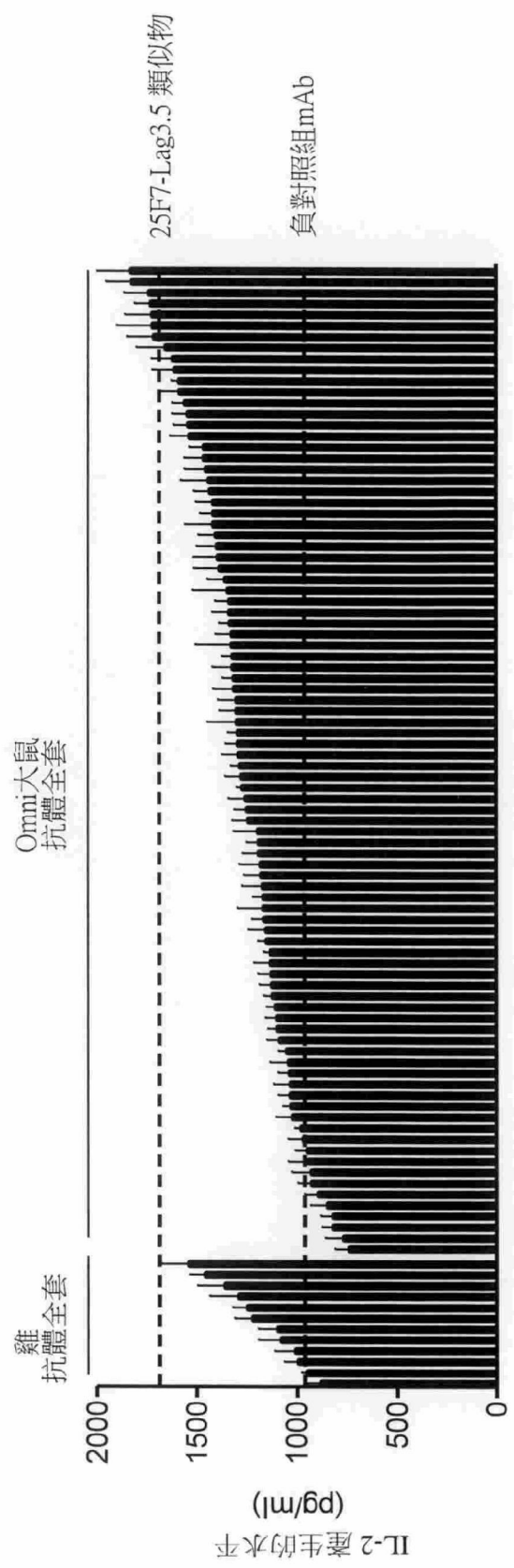


圖2

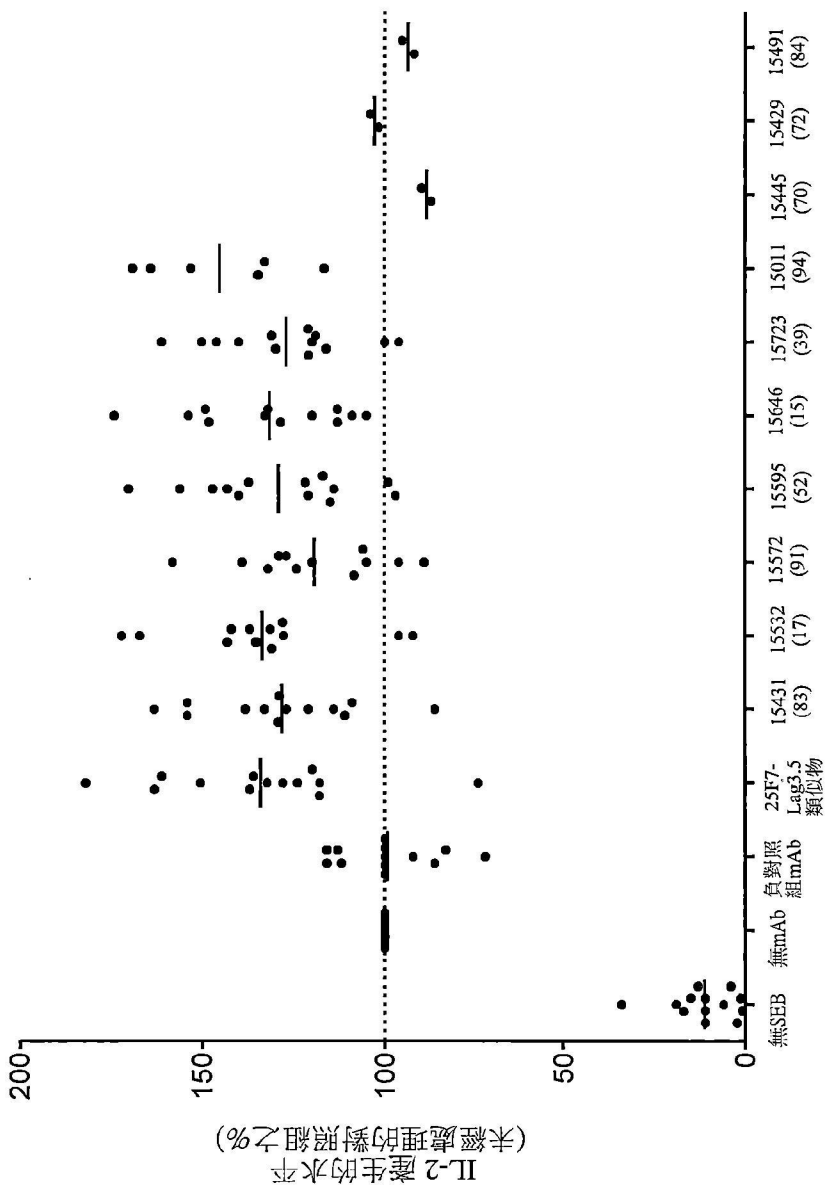


圖3

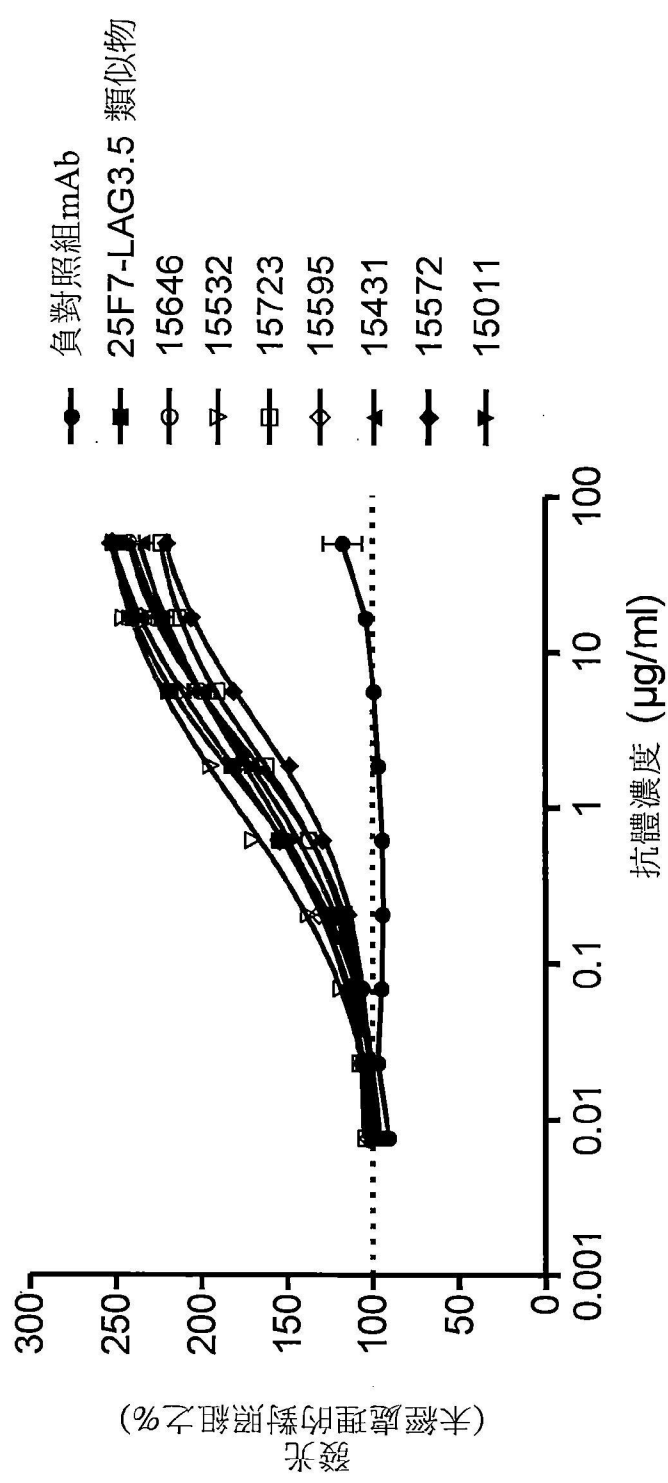


圖4

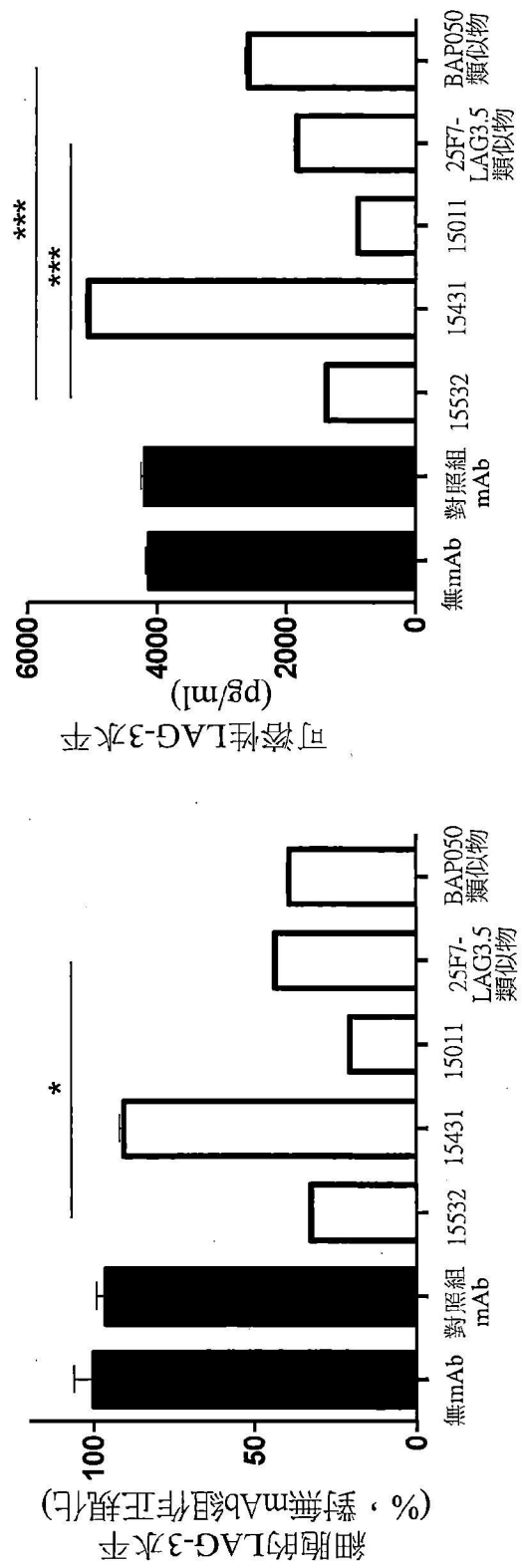


圖5

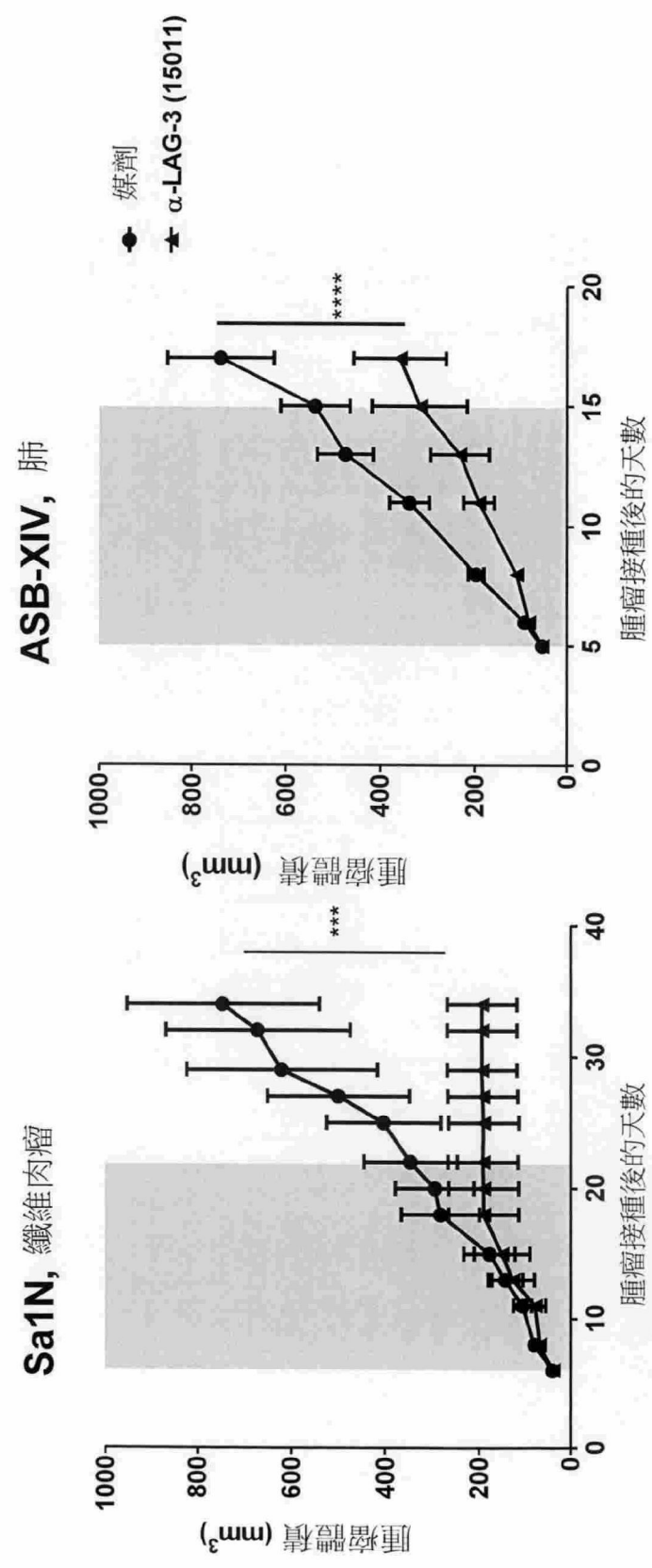


圖6

人類黑色素瘤A375異種移植

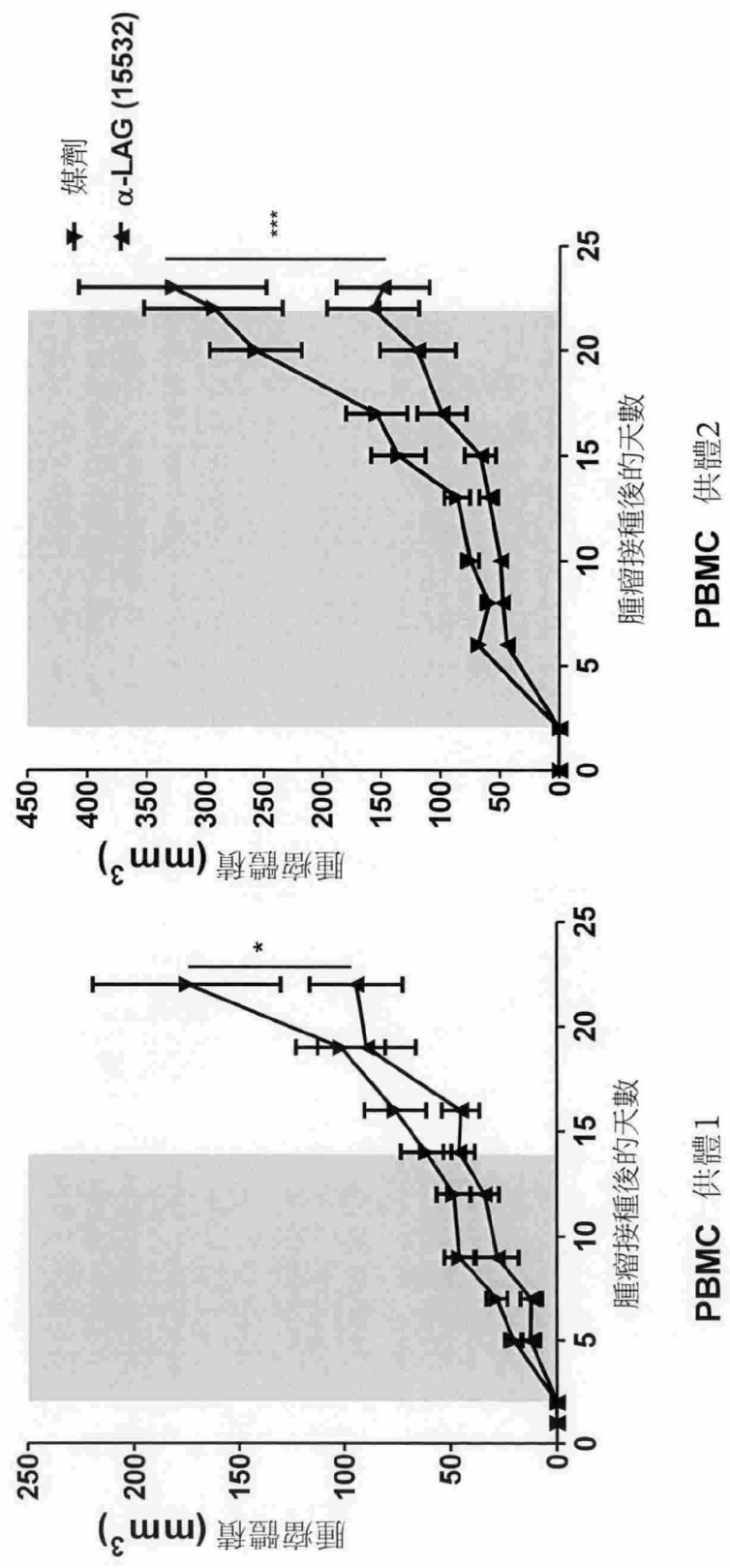


圖7

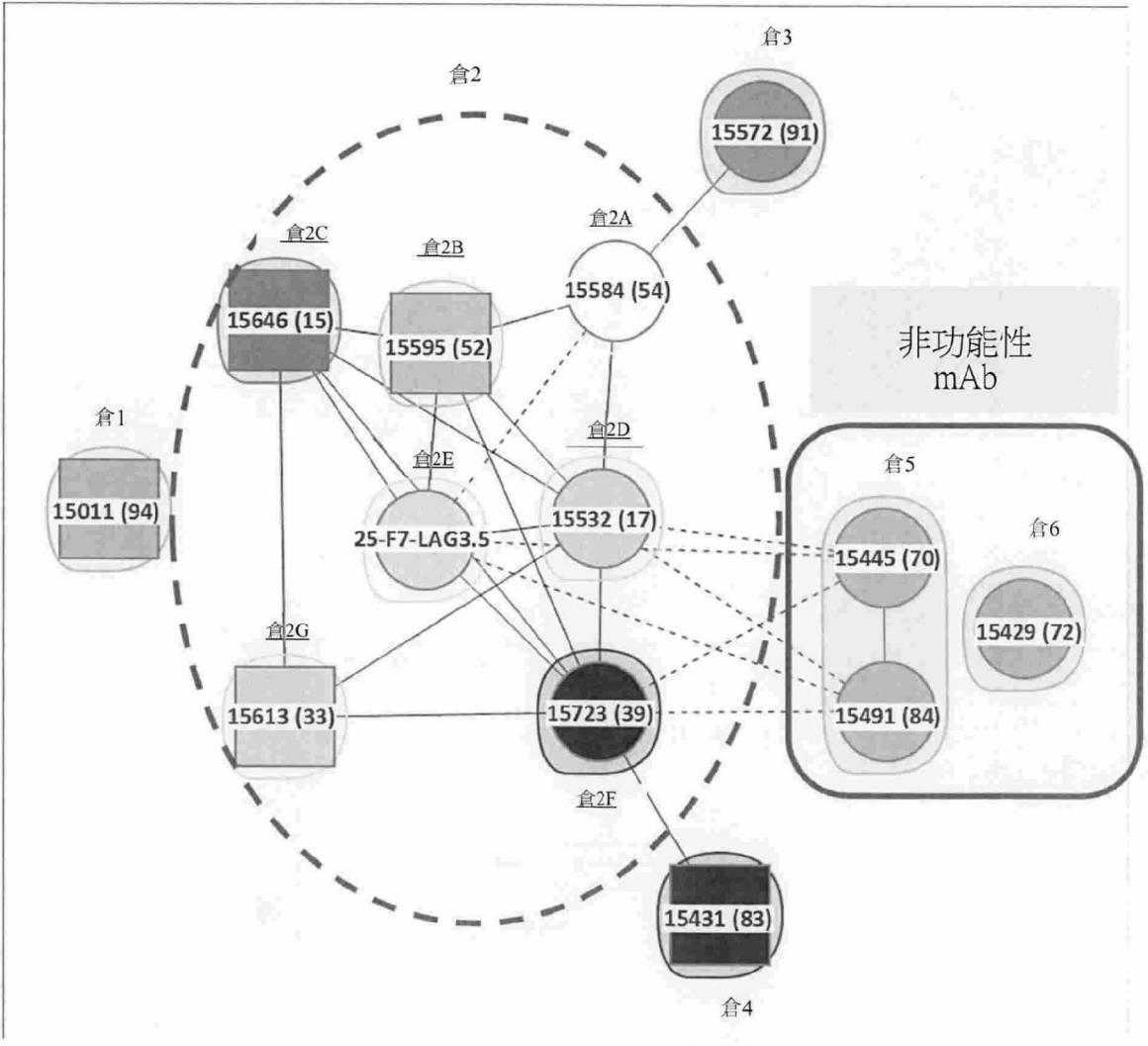


圖8

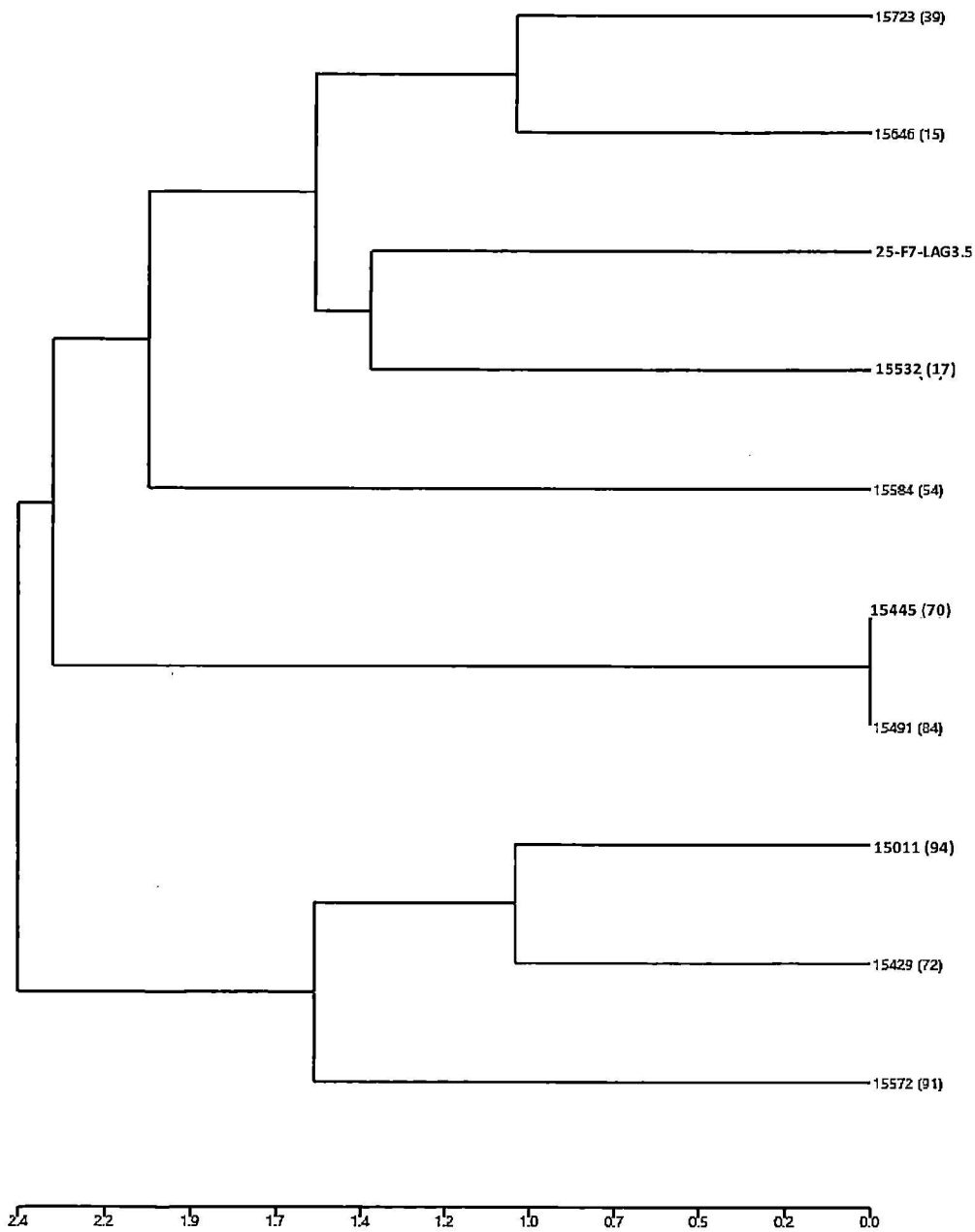


圖9