

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 972 425**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28	(2006.01) A61P 17/00	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01) A61P 25/00	(2006.01)
G01N 33/68	(2006.01) A61P 35/00	(2006.01)
A61P 1/04	(2006.01) A61P 31/00	(2006.01)
A61P 1/16	(2006.01) A61P 35/02	(2006.01)
A61P 7/00	(2006.01) A61P 35/04	(2006.01)
A61P 11/00	(2006.01) A61P 37/02	(2006.01)
A61P 13/08	(2006.01) A61P 37/04	(2006.01)
A61P 13/12	(2006.01) G01N 33/574	(2006.01)
A61P 15/00	(2006.01) A61P 1/18	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2015** **E 19161959 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2023** **EP 3560959**

54 Título: **Moléculas de anticuerpo para TIM-3 y su uso**

30 Prioridad:

31.01.2014 US 201461934469 P
19.12.2014 US 201462094912 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.06.2024

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (33.3%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH;
CHILDREN'S MEDICAL CENTER CORPORATION
(33.3%) y
DANA-FARBER CANCER INSTITUTE, INC. (33.3%)

72 Inventor/es:

SABATOS-PEYTON, CATHERINE, ANNE;
BRANNETTI, BARBARA;
HARRIS, ALAN, S.;
HUBER, THOMAS;
PIETZONKA, THOMAS;
MATARAZA, JENNIFER, MARIE;
BLATTNER, WALTER, A.;
HICKLIN, DANIEL, J.;
VASQUEZ, MAXIMILIANO;
DEKRUYFF, ROSEMARIE, H.;
UMETSU, DALE, T.;
FREEMAN, GORDON, JAMES;
HU, TIANCEN;
TARASZKA, JOHN, A. y
XU, FANGMIN

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

ES 2 972 425 T3

DESCRIPCIÓN

Moléculas de anticuerpo para TIM-3 y su uso

Antecedentes

La activación de células auxiliares T CD4⁺ inalteradas da como resultado el desarrollo de al menos dos poblaciones efectoras distintas, células Th1 y células Th2. Véanse las patentes de Estados Unidos Nos. 7,470,428, Mosmann T R et al., (1986) J Immunol 136: 2348-57; Mosmann TR et al., (1996) Immunol Today 17: 138-46; Abbas A K et al., (1996) Nature 383: 787-793. Las células Th1 producen citoquinas (por ejemplo, Interferón gamma, interleuquina 2, factor de necrosis tumoral alfa y linfotóxina) que se asocian comúnmente con respuestas inmunes mediadas por células contra patógenos intracelulares, reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado (Sher A et al., (1992). Annu Rev Immunol 10: 385-409), y la inducción de enfermedades autoinmunes específicas de órganos. Liblau R S et al., (1995) Immunol Today 16: 34-38. Las células Th2 producen citoquinas (por ejemplo, IL-4, IL-10 e IL-13) que son cruciales para el control de las infecciones helmínticas extracelulares y promueven enfermedades atópicas y alérgicas. Sher A et al., (1992) Annu Rev Immunol 10: 385-409. Además de sus funciones distintas en la enfermedad, las células Th1 y Th2 regulan de forma cruzada la expansión y las funciones de las otras. Por lo tanto, la inducción preferencial de células Th2 inhibe las enfermedades autoinmunes (Kuchroo VK et al., (1995) Cell 80: 707-18; Nicholson LB et al., (1995) Immunity 3: 397-405), y la inducción predominante de células Th1 puede regular la inducción de asma, atopia y alergias. Lack G et al., (1994) J Immunol 152: 2546-54; Hofstra C L et al., (1998) J Immunol 161: 5054-60.

TIM-3 es una proteína receptora transmembrana que se expresa, por ejemplo, en las células CD4⁺ Th1 (T auxiliares 1) y las células T CD8⁺ citotóxicas que secretan IFN- γ . Por lo general, TIM-3 no se expresa en células T inalteradas, sino que se sobreexpresa en las células T efectoras activadas. TIM-3 tiene un papel en la regulación de la inmunidad y la tolerancia *in vivo* (véase Hastings et al., Eur J Immunol. Septiembre de 2009; 39 (9): 2492-501). El documento WO -A-2011155607 (también publicado como EP-A-2581113) describe un anticuerpo anti-TIM-3 humana útil para tratar enfermedades asociadas con células que expresan TIM-3 humana, que es capaz de unirse a la secuencia de aminoácidos de un dominio extracelular de TIM-3 humana o a la configuración del dominio extracelular y tiene una alta actividad efectora, tal como citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (actividad ADCC). El documento WO -A-2010117057 (también publicado como EP-A-2417984) describe una composición para prevenir o tratar un tumor sanguíneo, que comprende un anticuerpo TIM-3 como ingrediente activo.

Existe una necesidad en la técnica de nuevas moléculas que regulen la función de TIM-3 y la función de las células que expresan TIM-3.

Resumen

La invención se define por las reivindicaciones y proporciona una composición farmacéutica que comprende una molécula de anticuerpo aislada capaz de unirse al dominio de inmunoglobulina de células T humanas y al dominio de mucina 3 (TIM-3) para su uso en un método de tratamiento de un cáncer en un sujeto en combinación con un segundo agente terapéutico. Como se define en la reivindicación 1, el anticuerpo anti-TIM-3 comprende una región variable de cadena pesada que comprende tres secuencias de CDR específicas y una región variable de cadena ligera que comprende tres secuencias de CDR específicas.

Las referencias a métodos de tratamiento en esta descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente divulgación para uso en el método de tratamiento.

En el presente documento se describen moléculas de anticuerpo que se unen a TIM-3 (dominio de inmunoglobulina de células T y dominio de mucina 3) con alta afinidad y especificidad. También se proporcionan moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de anticuerpos, vectores de expresión, células huésped y métodos para hacer las moléculas de anticuerpos. También se proporcionan inmunos conjugados, moléculas de anticuerpos multiespecíficas o biespecíficas y composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de anticuerpos. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento se pueden usar (solos o en combinación con otros agentes o modalidades terapéuticas) para tratar, prevenir y/o diagnosticar trastornos inmunitarios, cáncer, enfermedades infecciosas, enfermedad de Crohn, sepsis, SIRS (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica), y glomerulonefritis. Por lo tanto, las composiciones y los métodos para detectar TIM-3, así como los métodos para tratar diversos trastornos, incluidos el cáncer y los trastornos inmunitarios que usan las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, se describen en el presente documento.

Por consiguiente, en ciertos aspectos, esta descripción proporciona una molécula de anticuerpo (por ejemplo, una molécula de anticuerpo aislada o recombinante) que tiene una o más (por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 o todas) de las siguientes propiedades (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), (j), (k), (l), (m), (n), (o), (p) o (q):

(a) se une a TIM-3, por ejemplo, TIM-3 humana, con alta afinidad, por ejemplo, con una constante de disociación (K_D) de menos de aproximadamente 100 nM, típicamente de aproximadamente 10 nM, y más típicamente, de aproximadamente 1-0.1 nM o más fuerte, por ejemplo, menos de aproximadamente 0.2, 0.16, 0.15, 0.1, 0.075, 0.05, o 0.042 nM,

- (b) se une sustancialmente a una TIM-3 de primate no humano, por ejemplo, TIM-3 de cynomolgus, con una constante de disociación (K_D) de menos de aproximadamente 100 nM, típicamente de aproximadamente 10 nM, y más típicamente, de aproximadamente 3-0.3 nM o más fuerte, por ejemplo, 1-0.1 nM o más fuerte, por ejemplo, menos de aproximadamente 1 nM, 0.75 nM, o 0.68 nM,
- 5 (c) inhibe la unión de TIM-3 a un ligando de TIM-3, por ejemplo, fosfatidilserina (PtdSer), HMGB1 o CEACAM-1,
- (d) aumenta la secreción y/o proliferación de IFN-gamma y/o TNF-alfa en células T, por ejemplo, células T CD4+ o CD8+, por ejemplo, en células T CD4+ que se estimularon con anti-CD3/CD28 en presencia de IL-12 o en ensayos de cultivo autólogo de células T-DC con estimulación anti-CD3/CD28,
- 10 (e) mejora la actividad de las células NK (asesinas naturales) citotóxicas contra una célula objetivo (por ejemplo, células K562), por ejemplo, en un ensayo *in vitro*,
- (f) mejora la capacidad de macrófagos o células presentadoras de antígeno para estimular una respuesta de células T, por ejemplo, aumentando la secreción de IL-12 de células presentadoras de antígenos,
- (g) se une específicamente a un epítipo en TIM-3, por ejemplo, el mismo epítipo o similar al epítipo reconocido por una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 murino o humanizado como se describe en el presente documento, por ejemplo, una molécula de anticuerpo de las Tablas 1-4,
- 15 (h) muestra la misma o similar afinidad o especificidad de unión, o ambas, que una molécula de anticuerpo de las Tablas 1-4,
- (i) muestra la misma o similar afinidad o especificidad de unión, o ambas, que una molécula de anticuerpo (por ejemplo, una región variable de la cadena pesada y una región variable de la cadena ligera) descritas en las Tablas 1-4,
- 20 (j) muestra la misma o similar afinidad o especificidad de unión, o ambas, que una molécula de anticuerpo (por ejemplo, una región variable de la cadena pesada y una región variable de la cadena ligera) que comprende una secuencia de aminoácidos mostrada en las Tablas 1-4,
- (k) inhibe, por ejemplo, inhibe de manera competitiva, la unión de una segunda molécula de anticuerpo a TIM-3 en donde la segunda molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, por ejemplo, una molécula de anticuerpo elegida de las Tablas 1-4,
- 25 (l) une el mismo (o sustancialmente el mismo) o un epítipo superpuesto (o sustancialmente se superpone) con una segunda molécula de anticuerpo a TIM-3, en donde la segunda molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo descrita en este documento, por ejemplo, una molécula de anticuerpo elegida de las Tablas 1-4,
- 30 (m) compite por la unión, y/o se une al mismo epítipo (o sustancialmente al mismo) o superpuesto (o sustancialmente se superpone), con una segunda molécula de anticuerpo a TIM-3, en donde la segunda molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo descrita en este documento, por ejemplo, una molécula de anticuerpo elegida de las Tablas 1-4, por ejemplo, según lo determinado por los métodos descritos en el Ejemplo 11,
- 35 (n) tiene una o más propiedades biológicas de una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, por ejemplo, una molécula de anticuerpo elegida de las Tablas 1-4,
- (o) tiene una o más propiedades farmacocinéticas de una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, por ejemplo, una molécula de anticuerpo elegida de las Tablas 1-4,
- 40 (p) modula (por ejemplo, mejora o inhibe) una o más actividades de TIM-3, por ejemplo, que da como resultado una o más de: mejora la secreción de IFN-gamma y/o TNF-alfa en células T; mejora la proliferación en células T, por ejemplo, células T CD4+ o CD8+; mejora la actividad citotóxica de células NK; reduce la actividad supresora de las células T reguladoras (Treg); o aumenta las propiedades de estimulación inmunitaria de macrófagos y/o células presentadoras de antígeno, por ejemplo, aumenta la secreción de citoquinas, por ejemplo, la secreción de IL-12; o
- (q) se une a uno o más residuos dentro de: los dos residuos adyacentes al extremo terminal N de la cadena A (residuos Val24 y Glu25 en TIM-3 humana), el bucle BC, el bucle CC', la cadena F, el Bucle FG y la cadena G de TIM-3, o uno o más residuos dentro de una combinación de dos, tres, cuatro, cinco o todos de: los dos residuos adyacentes al extremo terminal N de la cadena A (residuos Val24 y Glu25 en TIM-3 humana), el bucle BC, el bucle CC', la cadena F, el bucle FG y la cadena G de TIM-3, por ejemplo, en donde la unión se analiza utilizando ELISA o Biacore.
- 45 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo se une a TIM-3 con alta afinidad, por ejemplo, con una K_D que es al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80 % o 90% más bajo que la K_D de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 murina, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 murina descrita en este documento.
- 50 En algunas realizaciones, el nivel de expresión de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 es más alto, por ejemplo, al

menos aproximadamente 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces más alto, que el nivel de expresión de una molécula de anticuerpo murino, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 murina o quimérica descrita en este documento. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo se expresa en células de mamíferos, por ejemplo, células de roedor.

- 5 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 reduce una o más actividades de TIM-3 con una IC₅₀ (concentración para 50% de inhibición) que es menor, por ejemplo, al menos aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% menor que la IC₅₀ de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 murina, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 murina descrita en este documento. En algunas realizaciones, la actividad de TIM-3 es la unión de TIM-3 a uno o más (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro o todos) de los ligandos de TIM-3 descritos en este documento, por ejemplo, uno, dos o más (todos) de PtdSer, CEACAM-1 o HMGB1.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a una superficie de TIM-3 (por ejemplo, uno, dos, tres, cinco, ocho, diez, quince o más), residuos de aminoácidos continuos o discontinuos (por ejemplo, no contiguos) escogidos de Val24, Glu25, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126 y/o Leu127.

- 15 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a una superficie de TIM-3 (por ejemplo, uno, dos, tres, cinco, ocho, diez, quince, veinte, veintiuno, veinticinco, o más), residuos de aminoácidos continuos o discontinuos (por ejemplo, no contiguos) elegidos de Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 y/o Val128, por ejemplo, como se detalla en la Tabla 13.
- 20 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a una superficie de TIM-3 (por ejemplo, uno, dos, tres, cinco, ocho, diez, quince, veinte, veintiuno, veinticinco, o más) residuos de aminoácidos continuos o discontinuos (por ejemplo, no contiguos) elegidos de Glu23, Val24, Glu25, Tyr26, Thr41, Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49, Pro50, Val51, Cys52, Trp53, Gly54, Lys55, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126 y/o Leu127.
- 25 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a una superficie TIM-3 (por ejemplo, uno, dos, tres, cinco, ocho, diez, quince, veinte, veintiuno, veinticinco, o más) residuos de aminoácidos continuos o discontinuos (por ejemplo, no contiguos) elegidos de Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49, Pro50, Val51, Cys52, Trp53, Gly54, Lys55, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 y/o Val128.

- En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 compite con CEACAM-1 por la unión a TIM-3. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa, por ejemplo, se une a uno, dos o más (todos) de Cys58, Asn119 y Lys122 de TIM-3, por ejemplo, desplaza o compite con CEACAM-1 por la unión a estos residuos. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 reduce o bloquea la formación de un enlace de hidrógeno entre Lys122 de TIM-3 y Asn42 de CEACAM-1, por ejemplo, en al menos aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%, en comparación con la formación de un enlace de hidrógeno entre Lys122 de TIM-3 y Asn42 de CEACAM-1 en ausencia de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3.

- En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa, por ejemplo, se une a un bucle de unión de PtdSer de TIM-3. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a, al menos, dos bucles de unión de PtdSer de TIM-3, por ejemplo, el bucle FG y el bucle CC' de TIM-3 (por ejemplo, un sitio de unión al ligando dependiente de iones metálicos (MILIBS)). Por ejemplo, el grupo carboxilo de PtdSer puede unirse al bucle CC' de TIM-3 y el grupo amino de PtdSer puede unirse al bucle FG de TIM-3. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 reduce o previene la penetración de la membrana mediada por PtdSer de TIM-3.

- En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 compite con HMGB1 por la unión a TIM-3. Por ejemplo, reduce la unión de HMGB1 al residuo 62 de TIM-3 (Q en TIM-3 de ratón, E en TIM-3 de humano), por ejemplo, en al menos aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%, en comparación con la unión de HMGB1 al residuo 62 de TIM-3 en ausencia de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3.

En aún otra realización más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 no compite con un ligando de Galectina-9 (Gal-9) por la unión a TIM-3.

- 50 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 tiene una mejor estabilidad, por ejemplo, al menos aproximadamente 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces más estable *in vivo* o *in vitro*, que una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 murina o humanizada murina, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 murina o humanizada descrita en el presente documento.

- En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una región de unión a antígeno, por ejemplo, una región variable o un fragmento de unión a antígeno de la misma, de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-

hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una, dos, tres o cuatro regiones variables de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una o dos regiones variables de la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una o dos regiones variables de la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una región constante de la cadena pesada para una IgG4, por ejemplo, una IgG4 humana. En otra realización, la IgG4 humana incluye una sustitución (por ejemplo, una sustitución de Ser por Pro) en la posición 228 de acuerdo con la numeración EU o en la posición 108 de la SEQ ID NO: 108 o 110. En aún otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una región constante de la cadena pesada para una IgG1, por ejemplo, una IgG1 humana. En una realización, la IgG1 humana incluye una sustitución (por ejemplo, una sustitución de Asn por Ala) en la posición 297 de acuerdo con la numeración EU o en la posición 180 de la SEQ ID NO: 112. En una realización, la IgG1 humana incluye una sustitución (por ejemplo, una sustitución de Asp por Ala) en la posición 265 de acuerdo con la numeración EU o en la posición 148 de la SEQ ID NO: 113, una sustitución (por ejemplo, una sustitución de Pro por Ala) en la posición 329 de acuerdo con la numeración EU o en la posición 212 de la SEQ ID NO: 113, o ambos. En una realización, la IgG1 humana incluye una sustitución (por ejemplo, una sustitución de Leu por Ala) en la posición 234 de acuerdo con la numeración EU o en la posición 117 de la SEQ ID NO: 114, una sustitución (por ejemplo, una sustitución de Leu por Ala) en la posición 235 de acuerdo con la numeración EU o en la posición 118 de la SEQ ID NO: 114, o ambas. En una realización, la región constante de la cadena pesada comprende una secuencia amino expuesta en la Tabla 1-5, o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a la misma.

En incluso otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una región constante de la cadena ligera kappa, por ejemplo, una región constante de la cadena ligera kappa humana. En una realización, la región constante de la cadena ligera comprende una secuencia amino expuesta en la Tabla 1-5, o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a la misma.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una región constante de la cadena pesada para un IgG4, por ejemplo, un IgG4 humana, y una región constante de la cadena ligera kappa, por ejemplo, una región constante de la cadena ligera kappa humana, por ejemplo, una región constante de la cadena pesada y ligera que comprende una secuencia amino expuesta en la Tabla 1-5, o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a la misma. En aún otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una región constante de la cadena pesada para una IgG1, por ejemplo, una IgG1 humana, y una región constante de la cadena ligera kappa, por ejemplo, una región constante de la cadena ligera kappa humana, por ejemplo, una región constante de la cadena pesada y ligera que comprende una secuencia amino expuesta en la Tabla 1-5, o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a la misma. En una realización, la IgG1 humana incluye una sustitución en la

posición 297 de acuerdo con la numeración EU (por ejemplo, una sustitución de Asn por Ala). En una realización, la IgG1 humana incluye una sustitución en la posición 265 de acuerdo con la numeración EU, una sustitución en la posición 329 de acuerdo con la numeración EU, o ambas (por ejemplo, una sustitución de Asp por Ala en la posición 265 y/o una sustitución de Pro por Ala en puesto 329). En una realización, la IgG1 humana incluye una sustitución en la posición de acuerdo con la numeración EU, una sustitución en la posición 235 de acuerdo con la numeración EU, o ambas (por ejemplo, una sustitución de Leu por Ala en la posición 234 y/o una sustitución de Leu por Ala en la posición 235).

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye un dominio variable de la cadena pesada y una región constante, un dominio variable de la cadena ligera y una región constante, o ambos, que comprenden la secuencia de aminoácidos de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificada por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDRs) de una región variable de la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4, o codificada por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDRs) de una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos mostrada en las Tablas 1-4, o codificada por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4. En una realización, una o más de las CDR (o colectivamente todas las CDR) tienen uno, dos, tres, cuatro, cinco o más cambios, por ejemplo, sustituciones, inserciones o eliminaciones de aminoácidos, con respecto a la secuencia de aminoácidos mostrada en las Tablas 1-4, o codificada por una secuencia de nucleótidos mostrada en las Tablas 1-4. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una sustitución en una CDR de la cadena pesada, por ejemplo, una o más sustituciones en una CDR1, CDR2 y/o CDR3 de la cadena pesada. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una sustitución en la CDR2 de la cadena pesada en la posición 55 de la región de la cadena pesada, por ejemplo, una sustitución de una asparagina por serina, o una asparagina por glutamina, en la posición 55 de la región de la cadena pesada de acuerdo con las Tablas 1-4 (por ejemplo, cualquiera de las SEQ ID NO: 1 o 18 para una secuencia murina o humanizada, sin modificar; o cualquiera de las SEQ ID NOs: 26 o 32 para una secuencia modificada).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDRs) de una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4, o codificada por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos o tres CDR (o colectivamente todas las CDR) de una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos mostrada en las Tablas 1-4, o codificada por una secuencia de nucleótidos mostrada en las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, una o más de las CDR (o colectivamente todas las CDR) tienen uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más cambios, por ejemplo, sustituciones, inserciones o eliminaciones de aminoácidos, en relación con las CDR que se muestran en las Tablas 1-4, o codificada por una secuencia de nucleótidos mostrada en las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos o tres CDR (o colectivamente todas las CDR) de una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos mostrada en las Tablas 1-4, o codificada por una secuencia de nucleótidos mostrada en las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, una o más de las CDR (o colectivamente todas las CDR) tienen uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más cambios, por ejemplo, sustituciones, inserciones o eliminaciones de aminoácidos, en relación con las CDR que se muestran en las Tablas 1-4, o codificada por una secuencia de nucleótidos mostrada en las Tablas 1-4.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR (o colectivamente todas las CDR) de una región variable de la cadena pesada y ligera que comprende una

secuencia de aminoácidos mostrada en las Tablas 1-4, o codificada por una secuencia de nucleótidos mostrada en las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, una o más de las CDR (o colectivamente todas las CDR) tienen uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o más cambios, por ejemplo, sustituciones, inserciones o eliminaciones de aminoácidos, en relación con las CDR que se muestran en las Tablas 1-4, o codificada por una secuencia de nucleótidos mostrada en las Tablas 1-4.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye las seis CDR de un anticuerpo descrito en este documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificada por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4, o las CDR estrechamente relacionadas, por ejemplo, las CDR que son idénticas o que tienen al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones, o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras). En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede incluir cualquier CDR descrita en el presente documento. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una sustitución en una CDR de la cadena pesada, por ejemplo, una o más sustituciones en una CDR1, CDR2 y/o CDR3 de la cadena pesada. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una sustitución en la CDR2 de la cadena pesada en la posición 55 de la región de la cadena pesada, por ejemplo, una sustitución de una asparagina por serina, o una asparagina por glutamina, en la posición 55 de la región de la cadena pesada de acuerdo con las Tablas 1-4 (por ejemplo, cualquiera de las SEQ ID NOs: 1 o 18 para una secuencia murina o humanizada, sin modificar; o cualquiera de las SEQ ID NOs: 26 o 32 para una secuencia modificada).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos o tres CDR de acuerdo con Kabat et al., (por ejemplo, al menos una, dos o tres CDR de acuerdo con la definición de Kabat como se expone en las Tablas 1-4) de una región variable de la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificada por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente; o que tengan al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con una, dos o tres de las CDR de acuerdo con Kabat et al., mostradas en las Tablas 1-4.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos o tres CDR de acuerdo con Kabat et al. (por ejemplo, al menos una, dos o tres CDR de acuerdo con la definición de Kabat como se expone en las Tablas 1-4) de una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificada por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente; o que tengan al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con una, dos o tres de las CDR de acuerdo con Kabat et al., mostrado en las Tablas 1-4.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR de acuerdo con Kabat et al., (Por ejemplo, al menos una, dos, tres, cuatro, cinco, o seis de las CDR de acuerdo con la definición de Kabat como se expone en las Tablas 1-4) de las regiones variables de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente; o que tengan al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con una, dos, tres, cuatro, cinco o seis de las CDR de acuerdo con Kabat et al., mostradas en las Tablas 1-4.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye las seis CDR de acuerdo con Kabat et al. (por ejemplo, las seis CDR de acuerdo con la definición de Kabat como se expone en las Tablas 1-4) de las regiones

variables de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente; o que tienen al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con las seis CDR de acuerdo con Kabat et al., como se expone en las Tablas 1-4. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede incluir cualquier CDR descrita en el presente documento.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos o tres bucles hipervariables de Chothia (por ejemplo, al menos uno, dos o tres bucles hipervariables de acuerdo con la definición de Chothia como se expone en las Tablas 1-4) de una región variable de la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que entran en contacto con TIM-3; o que tengan al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con uno, dos o tres bucles hipervariables de acuerdo con Chothia et al., mostrados en las Tablas 1-4.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos o tres bucles hipervariables de Chothia (por ejemplo, al menos uno, dos o tres bucles hipervariables de acuerdo con la definición de Chothia como se expone en las Tablas 1-4) de una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que entran en contacto con TIM-3; o que tengan al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con a uno, dos o tres bucles hipervariables de acuerdo con Chothia et al., como se expone en las Tablas 1-4.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis bucles hipervariables (por ejemplo, al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, o seis hipervariables). bucles de acuerdo con la definición de Chothia como se expone en las Tablas 1-4) de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que entran en contacto con TIM-3; o que tengan al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis bucles hipervariables de acuerdo con Chothia et al., como se expone en las Tablas 1-4.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye los seis bucles hipervariables (por ejemplo, los seis bucles hipervariables de acuerdo con la definición de Chothia como se expone en las Tablas 1-4) de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o bucles hipervariables estrechamente relacionados, por ejemplo, bucles hipervariables que son idénticos o que tienen al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras); o que tienen al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con los seis bucles hipervariables de acuerdo con Chothia et al., como se expone en las Tablas 1-4. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede incluir cualquier bucle hipervariable descrito en el presente documento.

En otra realización más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos o tres bucles hipervariables

que tienen las mismas estructuras canónicas que el bucle hipervariable correspondiente de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23, por ejemplo, las mismas estructuras canónicas que al menos el bucle 1 y/o el bucle 2 de los dominios variables de la cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento. Véase, por ejemplo, Chothia et al., (1992) J. Mol. Biol. 227: 799-817; Tomlinson et al., (1992) J. Mol. Biol. 227: 776-798 para descripciones de estructuras canónicas de bucle hipervariable. Estas estructuras pueden determinarse mediante la inspección de las tablas descritas en estas referencias.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una combinación de CDR o bucles hipervariables definidos de acuerdo con Kabat et al., y Chothia et al.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos o tres CDR o bucles hipervariables de una región variable de la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23, de acuerdo con la definición de Kabat y Chothia, (por ejemplo, al menos una, dos o tres CDR o bucles hipervariables de acuerdo con la definición de Kabat y Chothia como se expone en las Tablas 1-4); o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente; o que tengan al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con una, dos o tres CDR o bucles hipervariables de acuerdo con Kabat y/o Chothia como se expone en las Tablas 1-4.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos una, dos o tres CDR o bucles hipervariables de una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23, de acuerdo con la definición de Kabat y Chothia, (al menos una, dos o tres CDR o bucles hipervariables de acuerdo con la definición de Kabat y Chothia como se expone en las Tablas 1-4); o codificada por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o una secuencia sustancialmente idéntica (por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica) a cualquiera de las secuencias mencionadas anteriormente; o que tengan al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones, por ejemplo, sustituciones conservadoras) en relación con una, dos o tres CDR o bucles hipervariables de acuerdo con Kabat y/o Chothia como se expone en las Tablas 1-4.

La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede contener cualquier combinación de CDR o bucles hipervariables de acuerdo con las definiciones de Kabat y Chothia.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos o tres bucles hipervariables de Chothia de una región variable de la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo de las Tablas 1-4, o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que hacen contacto con TIM-3.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos o tres bucles hipervariables de Chothia de una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo de las Tablas 1-4, o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que hacen contacto con TIM-3.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos o tres bucles hipervariables de Kabat de una región variable de la cadena pesada de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo de las Tablas 1-4, o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que hacen contacto con TIM-3.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos o tres bucles hipervariables de Kabat de una región variable de la cadena ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo de las Tablas 1-4, o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que hacen contacto con TIM-3.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis bucles hipervariables de las regiones variables de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo descrito en el presente

documento, por ejemplo, un anticuerpo de las Tablas 1-4, o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que hacen contacto con TIM-3.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye los seis bucles hipervariables de las regiones variables de la cadena pesada y ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo de las Tablas 1-4, o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que hacen contacto con TIM-3, o al menos los aminoácidos de esos bucles hipervariables que hacen contacto con TIM-3, o bucles hipervariables estrechamente relacionados, por ejemplo, bucles hipervariables que son idénticos o que tienen al menos una alteración de aminoácido, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (por ejemplo, sustituciones, por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o inserciones conservadoras).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye al menos uno, dos o tres bucles hipervariables que tienen las mismas estructuras canónicas que el bucle hipervariable correspondiente de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo de las Tablas 1-4, por ejemplo, las mismas estructuras canónicas que al menos el bucle 1 y/o el bucle 2 de los dominios variables de la cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo descrito en el presente documento. Véase, por ejemplo, Chothia et al., (1992) J. Mol. Biol. 227: 799-817; Tomlinson et al., (1992) J. Mol. Biol. 227: 776-798 para descripciones de estructuras canónicas de bucle hipervariable. Estas estructuras pueden determinarse mediante la inspección de las tablas descritas en estas referencias. En una realización, por ejemplo, una realización que comprende una región variable, CDR (por ejemplo, CDR de Chothia o CDR de Kabat), u otra secuencia mencionada en el presente documento, por ejemplo, en las Tablas 1-4, la molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo monoespecífico, una molécula de anticuerpo biespecífica, o es una molécula de anticuerpo que comprende un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, por ejemplo, una mitad de anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de una mitad de anticuerpo. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo biespecífica que tiene una primera especificidad de unión para TIM-3 y una segunda especificidad de unión para PD-1, LAG-3, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), PD-L1 o PD-L2.

En ciertas realizaciones, el marco variable de la cadena ligera o pesada (por ejemplo, la región que abarca al menos FR1, FR2, FR3 o FR4) de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede elegir entre: (a) un marco variable de la cadena ligera o pesada que incluye al menos 80%, 85%, 87%, 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98%, o preferiblemente el 100% de los residuos de aminoácidos de marco variable de la cadena ligera o pesada humana, por ejemplo, un residuo de marco variable de la cadena ligera o pesada de un anticuerpo maduro humano, una secuencia de línea germinal humana o una secuencia de consenso humano; (b) un marco variable de la cadena ligera o pesada que incluye de 20% a 80%, 40% a 60%, 60% a 90%, o 70% a 95% de los residuos de aminoácidos de un marco variable de la cadena ligera o pesada humana, por ejemplo, un residuo de marco variable de la cadena ligera o pesada de un anticuerpo maduro humano, una secuencia de línea germinal humana, o una secuencia de consenso humano; (c) un marco no humano (por ejemplo, un marco de roedor); o (d) un marco no humano que se ha modificado, por ejemplo, para eliminar los determinantes antigénicos o citotóxicos, por ejemplo, desinmunizados o parcialmente humanizados. En algunas realizaciones, la región de marco variable de la cadena ligera o pesada incluye una secuencia de marco variable de la cadena ligera o pesada al menos 70, 75, 80, 85, 87, 88, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98, 99% idéntica o idéntica a los marcos de un segmento de VL o VH de un gen de línea germinal humana.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende un dominio variable de la cadena pesada que tiene al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, diez, quince, veinte o más cambios, por ejemplo, sustituciones, inserciones o eliminaciones de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos de, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de la región FR en la región variable completa, por ejemplo, como se muestra en la Figura 1A. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende un dominio variable de la cadena pesada que tiene uno o más (por ejemplo, todos) de: A en la posición 2, Y en la posición 3, S en la posición 7, R en la posición 13, V en la posición 37, R en la posición 42, V en la posición 72, A en la posición 79 o F en la posición 95, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de la FR en toda la región variable, por ejemplo, como se muestra en la Figura 1A. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende un dominio variable de la cadena pesada que tiene 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 posiciones seleccionadas de: A en la posición 2, Y en la posición 3, S en la posición 7, R en la posición 13, V en la posición 37, R en la posición 42, V en la posición 72, A en la posición 79 o F en la posición 95 de la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo de las Tablas 1-4, por ejemplo.

En ciertas realizaciones (y opcionalmente en combinación con las sustituciones de la cadena pesada descritas en este documento, por ejemplo, en el párrafo anterior), la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende un dominio variable de la cadena ligera que tiene al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, diez, quince, veinte o más cambios de aminoácidos, por ejemplo, sustituciones, inserciones o eliminaciones de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos de las Tablas 1-4, por ejemplo, la secuencia de aminoácidos de la región FR en toda la región variable, por ejemplo, que se muestra en la Figura 1B. En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-TIM-3 comprende un dominio variable de la cadena ligera que tiene M en la posición 89 de la secuencia de aminoácidos de un anticuerpo de las Tablas 1-4.

En algunas realizaciones, el dominio variable de la cadena pesada o ligera, o ambos, de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una secuencia de aminoácidos, que es sustancialmente idéntica a un aminoácido descrito en el presente documento, por ejemplo, al menos 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% o más idéntica a una región

variable de un anticuerpo descrito en este documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; o como se describe en las Tablas 1-4; o codificado por la secuencia de nucleótidos en las Tablas 1-4; o que difiere al menos 1 o 5 residuos, pero menos de 40, 30, 20 o 10 residuos, de una región variable de un anticuerpo descrito en el presente documento.

En ciertas realizaciones, la región variable de la cadena pesada o ligera, o ambas, de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácido nucleico descrita en el presente documento o un ácido nucleico que hibrida con una secuencia de ácido nucleico descrita en el presente documento (por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico como se expone en las Tablas 1-4) o su complemento, por ejemplo, bajo rigurosidad baja, rigurosidad media o rigurosidad alta, u otra condición de hibridación descrita en este documento.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una, dos, tres o cuatro regiones de unión a antígeno, por ejemplo, regiones variables, que tienen una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, o que difiera en no más de 1, 2, 5, 10 o 15 residuos de aminoácidos) de las secuencias mostradas en las Tablas 1 a 4. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 incluye un dominio VH y/o VL codificado por un ácido nucleico que tiene una secuencia de nucleótidos que codifica un anticuerpo de las Tablas 1 a 4, o una secuencia sustancialmente idéntica a una cualquiera de las secuencias de nucleótidos (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, o que difiera en no más de 3, 6, 15, 30, o 45 nucleótidos de las secuencias mostradas en las Tablas 1-4).

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una, dos o tres (por ejemplo, todas) CDR de una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una, dos, tres o más sustituciones, inserciones o eliminaciones, por ejemplo, conservadas sustituciones). En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una, dos o tres (por ejemplo, todas) las CDR de una región variable de la cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una, dos, tres o más sustituciones, inserciones o eliminaciones, por ejemplo, sustituciones conservadas). En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis (por ejemplo, todas) las CDR de regiones variables de la cadena pesada y ligera que tienen una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una, dos, tres o más sustituciones, inserciones o eliminaciones, por ejemplo, sustituciones conservadas).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una, dos o tres (por ejemplo, todas) CDR y/o bucles hipervariables de una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23, como se resume en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma (por ejemplo, una secuencia al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene uno, dos, tres o más sustituciones, inserciones o eliminaciones, por ejemplo, sustituciones conservadas). En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende al menos una, dos o tres (por ejemplo, todas) las CDR y/o bucles hipervariables de una región variable de la cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de un anticuerpo descrito en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo elegido de cualquiera de ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23; como se resume en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una, dos, tres o más sustituciones, inserciones o eliminaciones, por ejemplo, sustituciones conservadas). En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende las seis CDR y/o bucles hipervariables descritos en este documento, por ejemplo, descritos en las Tablas 1-4.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo tiene una región variable que es idéntica en secuencia, o que difiere en 1, 2, 3 o 4 aminoácidos de una región variable descrita en este documento (por ejemplo, una región FR descrita en este documento).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 es un anticuerpo completo o fragmento del mismo (por ejemplo, un Fab, F(ab')₂, Fv o un fragmento Fv de cadena sencilla (scFv)). En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 es un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo con especificidad única. La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 también puede ser una molécula de anticuerpo humanizada, quimérica, de camélido, de tiburón, o generada *in vitro*. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 de la misma es una molécula de anticuerpo humanizado. Las cadenas pesada y ligera de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 pueden ser de longitud completa (por ejemplo, un anticuerpo puede incluir al menos una o al menos dos cadenas pesadas completas, y al menos una o al menos dos cadenas ligeras completas) o puede incluir un fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, un Fab, F(ab')₂, Fv, un fragmento Fv de cadena sencilla, un anticuerpo de dominio único, un diacuerpo (dAb), un anticuerpo bivalente o biespecífico o un fragmento del mismo, una variante de dominio único del mismo, o un anticuerpo de camélido).

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 está en forma de una molécula de anticuerpo biespecífica o multiespecífica. En una realización, la molécula de anticuerpo biespecífica tiene una primera especificidad de unión a TIM-3 y una segunda especificidad de unión, por ejemplo, una segunda especificidad de unión a PD-1, LAG-3, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), PD-L1 o PD-L2. En una realización, la molécula de anticuerpo biespecífica se une a TIM-3 y PD-1. En otra realización, la molécula de anticuerpo biespecífica se une a TIM-3 y LAG-3. En otra realización, la molécula de anticuerpo biespecífica se une a TIM-3 y CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5). En otra realización, la molécula de anticuerpo biespecífica se une a TIM-3 y CEACAM-1. En otra realización, la molécula de anticuerpo biespecífica se une a TIM-3 y CEACAM-3. En otra realización más, la molécula de anticuerpo biespecífica se une a TIM-3 y CEACAM-5. En otra realización, la molécula de anticuerpo biespecífica se une a TIM-3 y PD-L1. En otra realización más, la molécula de anticuerpo biespecífica se une a TIM-3 y PD-L2. Cualquier combinación de las moléculas mencionadas anteriormente se puede hacer en una molécula de anticuerpo multiespecífica, por ejemplo, un anticuerpo trispecífico que incluye una primera especificidad de unión a TIM-3, y una segunda y tercera especificidades de unión a una o más de: PD-1, LAG-3, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), PD-L1 o PD-L2.

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con una molécula biespecífica que comprende uno o más de: PD-1, LAG-3, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), PD-L1 o PD-L2. En una realización, la molécula de anticuerpo biespecífica usada en combinación se une a CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5) y LAG-3. En otra realización, la molécula de anticuerpo biespecífica usada en combinación se une a CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5) y PD-1. En otra realización, la molécula de anticuerpo biespecífica usada en combinación se une a LAG-3 y PD-1.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 tiene una región constante de la cadena pesada (Fc) elegida de, por ejemplo, las regiones constantes de la cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, e IgE; particularmente, elegidas de, por ejemplo, las regiones constantes de la cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, más particularmente, la región constante de la cadena pesada de IgG1 o IgG2 (por ejemplo, IgG1 o IgG2 humana). En algunas realizaciones, la región constante de la cadena pesada es IgG1 humana. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 tiene una región constante de la cadena ligera elegida de, por ejemplo, las regiones constantes de la cadena ligera de kappa o lambda, en algunas realizaciones kappa (por ejemplo, kappa humana). En algunas realizaciones, la región constante se altera, por ejemplo, se muta, para modificar las propiedades de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 (por ejemplo, para aumentar o disminuir una o más de: la unión al receptor de Fc, la glicosilación del anticuerpo, el número de residuos de cisteína, función de las células efectoras, o la función del complemento). Por ejemplo, la región constante puede mutarse en las posiciones 296 (M por Y), 298 (S por T), 300 (T por E), 477 (H por K) y 478 (N por F) para alterar la unión del receptor Fc (por ejemplo, las posiciones mutadas corresponden a las posiciones 132 (M por Y), 134 (S por T), 136 (T por E), 313 (H por K) y 314 (N por F) de las SEQ ID NOs: 108 o 110, o posiciones 135 (M por Y), 137 (S por T), 139 (T por E), 316 (H por K) y 317 (N por F) de las SEQ ID NOs: 111, 112, 113 o 114). En otra realización, la región constante de la cadena pesada de un IgG4, por ejemplo, un IgG4 humana, se muta en la posición 228 de acuerdo con la numeración EU (por ejemplo, S por P), por ejemplo, como se muestra en la Tabla 5. En ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 comprenden una IgG4 humana mutada en la posición 228 de acuerdo con la numeración EU (por ejemplo, S por P), por ejemplo, como se muestra en la Tabla 5; y una región constante de la cadena ligera kappa, por ejemplo, como se muestra en la Tabla 5. En aún otra realización más, la región constante de la cadena pesada de una IgG1, por ejemplo, una IgG1 humana, está mutada en una o más de la posición 297 (por ejemplo, de N por A), posición 265 (por ejemplo, D por A), posición 329 (por ejemplo, P por A), posición 234 (por ejemplo, L por A) o posición 235 (por ejemplo, L por A), todo de acuerdo con la numeración EU, por ejemplo, como se muestra en la Tabla 5. En ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 comprenden una IgG1 humana mutada en una o más de las posiciones mencionadas anteriormente, por ejemplo, como se muestra en la Tabla 5; y una región constante de la cadena ligera kappa, por ejemplo, como se muestra en la Tabla 5. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 es una molécula de anticuerpo humanizado.

En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 comprenden combinaciones de regiones marco humanas o humanizadas con CDR (regiones determinantes de complementariedad).

La descripción también presenta una molécula de anticuerpo que compite con un anticuerpo monoclonal, por ejemplo, una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, para unirse a TIM-3 humana.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo monoclonal comprende:

5

10

15

20

25

La descripción también presenta una molécula de anticuerpo que se une al mismo (o sustancialmente al mismo) o un epítipo que se superpone (o que se superpone sustancialmente) como un anticuerpo monoclonal, por ejemplo, una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, a TIM-3 humana.

30

35

40

45

50

(f) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 30; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO:

5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8.

La descripción también presenta una molécula de ácido nucleico que comprende una o ambas secuencias de nucleótidos que codifican las regiones variables de la cadena pesada y ligera, CDR, bucles hipervariables, regiones marco de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, como se describe en el presente documento. En ciertas realizaciones, la secuencia de nucleótidos que codifica la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 tiene un codón optimizado. Por ejemplo, la descripción presenta un primero y segundo ácido nucleico que codifican regiones variables de la cadena pesada y ligera, respectivamente, de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 elegida de una o más de, por ejemplo, cualquiera de ABTIM3, ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23, como se resume en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma. Por ejemplo, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma (por ejemplo, una secuencia al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, o que difiere en no más de 3, 6, 15, 30 o 45 nucleótidos de las secuencias mostradas en las Tablas 1-4).

En algunas realizaciones, se describen ácidos nucleicos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican regiones variables de la cadena pesada y ligera y CDR de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la descripción proporciona un primer y segundo ácido nucleico que codifican regiones variables de la cadena pesada y ligera, respectivamente, de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 de acuerdo con las Tablas 1-4 o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma. Por ejemplo, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 de acuerdo con la Tabla 1-4, o una secuencia sustancialmente idéntica a esa secuencia de nucleótidos (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, o que difiere en no más de 3, 6, 15, 30 o 45 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos mencionada anteriormente).

En ciertas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos o tres CDR, o bucles hipervariables, de una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una, dos, tres o más sustituciones, inserciones o eliminaciones, por ejemplo, sustituciones conservadas).

En ciertas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos o tres CDR, o bucles hipervariables, de una región variable de la cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una, dos, tres o más sustituciones, inserciones o eliminaciones, por ejemplo, conservadas sustituciones).

En algunas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR, o bucles hipervariables, de regiones variables de la cadena pesada y ligera que tienen una secuencia de aminoácidos como se expone en la Tabla 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una, dos, tres o más sustituciones, inserciones o eliminaciones, por ejemplo, sustituciones conservadas).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 está aislada o es recombinante.

En ciertos aspectos, esta descripción presenta células huésped y vectores que contienen los ácidos nucleicos descritos en el presente documento. Los ácidos nucleicos pueden estar presentes en un vector único o en vectores separados presentes en la misma célula huésped o una célula huésped separada. La célula huésped puede ser una célula eucariota, por ejemplo, una célula de mamífero, una célula de insecto, una célula de levadura o una célula procariota, por ejemplo, *E. coli*. Por ejemplo, la célula de mamífero puede ser una célula cultivada o una línea celular. Los ejemplos de células de mamífero incluyen líneas celulares linfocíticas (por ejemplo, NS0), células de ovario de hámster chino (CHO), células COS, células de ovocito y células de un animal transgénico, por ejemplo, células epiteliales mamarias.

En algunos aspectos, la presente descripción proporciona un método para proporcionar una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento. El método puede incluir: proporcionar un antígeno TIM-3 (por ejemplo, un antígeno que comprende al menos una porción de un epítipo de TIM-3, por ejemplo, el dominio IgV de TIM-3); obtener una molécula de anticuerpo que se une específicamente al antígeno TIM-3; y evaluar si la molécula de anticuerpo se une específicamente al antígeno TIM-3, o evaluar la eficacia de la molécula de anticuerpo en la modulación, por ejemplo, estimulación o inhibición de la actividad de TIM-3. El método puede incluir además administrar la molécula de anticuerpo a un sujeto, por ejemplo, un animal humano o no humano.

En ciertos aspectos, la descripción proporciona composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticas, que incluyen un vehículo, excipiente o estabilizador farmacéuticamente aceptable, y al menos una de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento. En una realización, la composición, por ejemplo, la composición farmacéutica, incluye una combinación de la molécula de anticuerpo y uno o más agentes, por ejemplo, un agente terapéutico u otra molécula de anticuerpo, como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo se conjuga con una etiqueta o un agente terapéutico. En algunas realizaciones, las composiciones, por ejemplo, las composiciones farmacéuticas, comprenden una combinación de la molécula de anticuerpo y un segundo agente, por ejemplo, un agente terapéutico, o dos o más de las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente, como se describe adicionalmente en el presente documento.

Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento pueden inhibir, reducir o neutralizar una o más actividades de TIM-3, por ejemplo, dando como resultado el bloqueo o la reducción de un punto de control inmunitario en células T o células NK, o la revitalización de una respuesta inmune mediante la modulación de las células presentadoras de antígeno. En una realización, la molécula de anticuerpo da como resultado uno o más de: la mejora de la sección de IFN-gamma y/o TNF alfa en células T; mejorar la proliferación en células T, por ejemplo, células T CD4+ o CD8+; mejorar la actividad citotóxica de las células NK; o reducir la actividad supresora de las células T reguladoras (Treg) o macrófagos; o aumentar la capacidad de los macrófagos o células dendríticas para estimular una respuesta inmune. Por lo tanto, tales moléculas de anticuerpos pueden usarse para tratar o prevenir trastornos en los que se desea mejorar una respuesta inmune en un sujeto.

Usos de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3

Las moléculas de anticuerpo descritas en este documento pueden modular (por ejemplo, mejorar, estimular, aumentar, inhibir, reducir o neutralizar) una o más actividades de TIM-3. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo da como resultado uno o más de: mejorar la secreción y/o proliferación de IFN-gamma en células T o mejorar la actividad citotóxica de células NK. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 aumenta la secreción de IFN-gamma en al menos 16%, 18%, 20%, 22%, 24%, 26%, 28% o 30%, por ejemplo, en un ensayo del Ejemplo 4. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 aumenta la actividad citotóxica de las células NK en al menos aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 80% o 100%, por ejemplo, en un ensayo del Ejemplo 5. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 podría aumentar la actividad citotóxica de las células NK hasta al menos aproximadamente el 60% o el 70% de las células objetivo eliminadas cuando E/T = 5, o hasta al menos aproximadamente 75% o 85% de las células objetivo eliminadas cuando E/T = 12, o hasta al menos aproximadamente el 85% o 95% de las células objetivo eliminadas cuando E/T = 25, por ejemplo, en un ensayo del Ejemplo 5.

En ciertos aspectos, se proporciona un método para modular (por ejemplo, estimular o inhibir) una respuesta inmune en un sujeto. El método comprende administrar al sujeto una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento (por ejemplo, una cantidad terapéuticamente efectiva de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3), sola o en combinación con uno o más agentes o procedimientos (por ejemplo, en combinación con otros agentes inmunomoduladores), de modo que la respuesta inmune en el sujeto sea modulada. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo mejora, estimula o aumenta una respuesta inmune en el sujeto. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo inhibe, reduce o neutraliza una respuesta inmune en un sujeto.

El sujeto puede ser un mamífero, por ejemplo, un mono, un primate, preferiblemente un primate superior, por ejemplo, un ser humano (por ejemplo, un paciente que tiene, o está en riesgo de tener, un trastorno descrito en el presente documento). En algunas realizaciones, el sujeto necesita mejorar una respuesta inmune, y en algunas realizaciones, el sujeto necesita inhibir una respuesta inmune. En una realización, el sujeto tiene, o está en riesgo de tener, un trastorno descrito en este documento, por ejemplo, un cáncer o un trastorno infeccioso como se describe en este documento. En ciertas realizaciones, el sujeto está, o está en riesgo de ser, inmunocomprometido. Por ejemplo, el sujeto se está sometiendo o ha sido sometido a un tratamiento de quimioterapia y/o radioterapia. Alternativamente, o en combinación, el sujeto está, o está en riesgo de ser, inmunocomprometido como resultado de una infección.

En un aspecto, se proporciona un método para tratar (por ejemplo, uno o más de reducir, inhibir o retrasar la progresión) un cáncer o un tumor en un sujeto. El método comprende administrar al sujeto una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento, por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con uno o más agentes o procedimientos. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un modulador de una molécula coestimuladora (por ejemplo, un agonista de una molécula coestimuladora) o un modulador de una molécula inhibidora (por ejemplo, un inhibidor de un inhibidor del punto de control inmunitario), por ejemplo, como se describe en el presente documento.

Esta descripción también proporciona un método para reducir o inhibir el crecimiento de un cáncer o células tumorales (por ejemplo, tratar un cáncer) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento, por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con un segundo agente, por ejemplo, un inmunomodulador (por ejemplo, un inhibidor de anti-PD-1, PD-L1, LAG-3 o CEACAM-1 (por ejemplo, anticuerpo), o una combinación de los mismos.

En ciertas realizaciones, el cáncer tratado con la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, incluye, pero no se limita a, un tumor sólido, un cáncer hematológico (por ejemplo,

- leucemia, linfoma, mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple) y una lesión metastásica. En una realización, el cáncer es un tumor sólido. Los ejemplos de tumores sólidos incluyen tumores malignos, por ejemplo, sarcomas y carcinomas, por ejemplo, adenocarcinomas de los diversos sistemas de órganos, como los que afectan el pulmón, la mama, el ovario, el sistema linfático, el tracto gastrointestinal (por ejemplo, el colon), anal, los genitales y el tracto genitourinario
- 5 (por ejemplo, renales, uroteliales, de la vejiga, próstata), faringe, SNC (por ejemplo, células cerebrales, neurales o gliales), cabeza y cuello, piel (por ejemplo, melanoma) y páncreas, así como adenocarcinomas que incluyen tumores malignos tales como cánceres de colon, cáncer rectal, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer del intestino delgado y cáncer de esófago. El cáncer puede estar en una etapa temprana, intermedia, tardía o metastásica.
- 10 En una realización, el cáncer se elige entre un cáncer de pulmón (por ejemplo, un adenocarcinoma de pulmón o un cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)) (por ejemplo, un NSCLC con histología escamosa y/o no escamosa, o un adenocarcinoma NSCLC), un melanoma (por ejemplo, un melanoma avanzado), un cáncer renal (por ejemplo, un carcinoma de células renales), un cáncer de hígado (por ejemplo, un carcinoma hepatocelular), un mieloma (por ejemplo, un mieloma múltiple), un cáncer de próstata, cáncer de mama (por ejemplo, un cáncer de mama
- 15 que no expresa uno, dos o todos los receptores de estrógeno, receptor de progesterona o Her2/neu, por ejemplo, un cáncer de mama triple negativo), un cáncer de ovario, un cáncer colorrectal, un cáncer de páncreas, un cáncer de cabeza y cuello (por ejemplo, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer anal, cáncer gastroesofágico (por ejemplo, carcinoma de células escamosas esofágicas), mesotelioma, cáncer nasofaríngeo, cáncer de tiroides, cáncer cervical, una enfermedad linfoproliferativa (por ejemplo, una enfermedad linfoproliferativa posterior a trasplante) o un cáncer hematológico, (por ejemplo, linfoma de células B grandes difusas, linfoma de células T, linfoma de células B o un linfoma no Hodgkin o una leucemia (por ejemplo, una leucemia mieloide o una leucemia linfóide).
- 20 En otra realización, el cáncer se elige de un carcinoma (por ejemplo, carcinoma avanzado o metastásico), melanoma o carcinoma de pulmón, por ejemplo, un carcinoma de pulmón de células no pequeñas.
- 25 En una realización, el cáncer es un cáncer de pulmón, por ejemplo, un adenocarcinoma de pulmón, un cáncer de pulmón de células no pequeñas o un cáncer de pulmón de células pequeñas.
- En una realización, el cáncer es un melanoma, por ejemplo, un melanoma avanzado. En una realización, el cáncer es un melanoma avanzado o no resecable que no responde a otras terapias. En otras realizaciones, el cáncer es un melanoma con una mutación BRAF (por ejemplo, una mutación BRAF V600). En otras realizaciones más, la molécula
- 30 de anticuerpo anti-TIM-3 se administra después del tratamiento con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab) con o sin un inhibidor de BRAF (por ejemplo, vemurafenib o dabrafenib).
- En otra realización, el cáncer es un hepatocarcinoma, por ejemplo, un hepatocarcinoma avanzado, con o sin una infección viral, por ejemplo, una hepatitis viral crónica.
- En otra realización, el cáncer es un cáncer de próstata, por ejemplo, un cáncer de próstata avanzado.
- 35 En aún otra realización, el cáncer es un mieloma, por ejemplo, mieloma múltiple.
- En aún otra realización, el cáncer es un cáncer renal, por ejemplo, un carcinoma de células renales (RCC) (por ejemplo, un RCC metastásico, un carcinoma de células renales de células claras (RCCC) o un carcinoma de células papilares del riñón).
- 40 En una realización, el microentorno de cáncer tiene un nivel elevado de expresión de PD-L1. Alternativamente, o en combinación, el microentorno del cáncer puede tener una mayor expresión de IFN γ y/o CD8.
- En algunas realizaciones, el sujeto tiene, o se identifica que tiene, un tumor que tiene uno o más de alto nivel o expresión de PD-L1, o que es un linfocito infiltrante de tumores (TIL)+ (por ejemplo, que tiene un mayor número de TIL), o ambos. En ciertas realizaciones, el sujeto tiene, o se identifica que tiene, un tumor que tiene un alto nivel o expresión de PD-L1 y que es TIL+. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento incluyen
- 45 además la identificación de un sujeto con base en que tiene un tumor que tiene uno o más de alto nivel o expresión de PD-L1 o que tiene TIL+, o ambos. En ciertas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento incluyen además la identificación de un sujeto con base en que tiene un tumor que tiene un alto nivel o expresión de PD-L1 y que es TIL+. En algunas realizaciones, los tumores que son TIL+ son positivos para CD8 e IFN γ . En algunas realizaciones, el sujeto tiene, o se identifica que tiene, un alto porcentaje de células que son positivas para una, dos o
- 50 más de PD-L1, CD8 y/o IFN γ . En ciertas realizaciones, el sujeto tiene o se identifica que tiene un alto porcentaje de células que son positivas para todos los PD-L1, CD8 e IFN γ .
- En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento incluyen además la identificación de un sujeto porque tiene un alto porcentaje de células que son positivas para una, dos o más de PD-L1, CD8 y/o IFN γ . En ciertas realizaciones, los métodos descritos en este documento incluyen además la identificación de un sujeto porque
- 55 tiene un alto porcentaje de células que son positivas para todos los PD-L1, CD8 e IFN γ . En algunas realizaciones, el sujeto tiene, o se identifica que tiene, uno, dos o más de PD-L1, CD8 y/o IFN γ , y uno o más de un cáncer de pulmón, por ejemplo, cáncer de pulmón de células escamosas o adenocarcinoma de pulmón; un cáncer de cabeza y cuello;

un cáncer cervical de células escamosas; un cáncer de estómago; un cáncer de esófago; un cáncer de tiroides; un melanoma y/o un cáncer nasofaríngeo (NPC). En ciertas realizaciones, los métodos descritos en este documento describen además la identificación de un sujeto porque tiene uno, dos o más de PD-L1, CD8 y/o IFN γ , y uno o más de un cáncer de pulmón, por ejemplo, cáncer de pulmón de células escamosas o adenocarcinoma de pulmón; un cáncer de cabeza y cuello; un cáncer cervical de células escamosas; un cáncer de estómago; un cáncer de tiroides; un melanoma, y/o un cáncer nasofaríngeo.

En algunas realizaciones, el sujeto tiene, o se identifica que tiene, un tumor que tiene uno, dos o más de alto nivel o expresión de PD-1, alto nivel o expresión de TIM-3 y/o alto nivel de infiltración de células T reguladoras en el tumor, por ejemplo, un aumento en el número o porcentaje de Treg presentes en el tumor. En ciertas realizaciones, el sujeto tiene, o se identifica que tiene, un tumor que tiene un alto nivel o expresión de PD-1 y TIM-3, y un nivel alto, por ejemplo, número, o células T reguladoras en el tumor. En algunas realizaciones, los métodos descritos en este documento incluyen además la identificación de un sujeto basado en uno, dos o más de un alto porcentaje de células que son positivas para PD-1, un alto porcentaje de células que son positivas para TIM-3, y/o un alto nivel de infiltración de células T reguladoras en el tumor, por ejemplo, un aumento en el número o porcentaje de Treg presentes en el tumor. En algunas realizaciones, los métodos descritos en este documento incluyen además la identificación de un sujeto basado en uno, dos o más de un alto porcentaje de células que son positivas para PD-1, un alto porcentaje de células que son positivas para TIM-3, y/o un alto nivel de infiltración de células T reguladoras en el tumor, por ejemplo, un mayor número o porcentaje de Treg presentes en el tumor, y uno o más de un cáncer de pulmón, por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC); un cáncer hepatocelular, por ejemplo, carcinoma hepatocelular; o un cáncer de ovario, por ejemplo, carcinoma de ovario.

Los métodos y composiciones descritos en el presente documento son útiles para tratar lesiones metastásicas asociadas con los cánceres mencionados anteriormente.

En otros aspectos, esta descripción proporciona un método para tratar una enfermedad infecciosa en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-TIM-3 descrito en el presente documento, o una parte del mismo que se une al antígeno, solo o en combinación con uno o más agentes o procedimientos (por ejemplo, uno o más agentes inmunomoduladores).

Además, esta descripción proporciona métodos para mejorar una respuesta inmune a un antígeno en un sujeto, que comprende administrar al sujeto: (i) el antígeno; y (ii) un anticuerpo anti-TIM-3, o una porción de unión a antígeno del mismo, de manera que se mejore una respuesta inmune al antígeno en el sujeto. El antígeno puede ser, por ejemplo, un antígeno tumoral, un antígeno viral, un antígeno bacteriano o un antígeno de un patógeno.

La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede administrar al sujeto sistémicamente (por ejemplo, por vía oral, parenteral, subcutánea, intravenosa, rectal, intramuscular, intraperitoneal, intranasal, transdérmica, o por inhalación o instalación intracavitaria), por vía tópica, o por aplicación a las membranas mucosas, como la nariz, garganta y bronquios.

La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede usar sola en forma no conjugada, o se puede unir a una sustancia, por ejemplo, un agente o fracción citotóxica (por ejemplo, un fármaco terapéutico; un compuesto que emite radiación; moléculas de origen en una planta, fúngicas o bacterianas; o una proteína biológica (por ejemplo, una toxina proteica) o una partícula (por ejemplo, una partícula viral recombinante, por ejemplo, a través de una proteína de la cubierta viral). Por ejemplo, el anticuerpo anti-TIM-3 se puede acoplar a un isótopo radioactivo tal como un emisor α , β o γ , o un emisor β y γ .

El experto en la técnica puede determinar las dosis y los regímenes terapéuticos de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra por inyección (por ejemplo, por vía subcutánea o intravenosa) a una dosis de aproximadamente 1 a 30 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 5 a 25 mg/kg, aproximadamente 10 a 20 mg/kg, aproximadamente 1 a 5 mg/kg, o aproximadamente 3 mg/kg. El cronograma de dosificación puede variar, por ejemplo, una vez a la semana o una vez cada 2, 3 o 4 semanas. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra a una dosis de aproximadamente 10 a 20 mg/kg cada dos semanas.

Las moléculas de anticuerpo descritas en este documento se prefieren para uso en los métodos descritos en este documento, aunque en su lugar se pueden usar otros anticuerpos anti-TIM-3, o en combinación con una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 de la divulgación.

Terapias Combinadas

Los métodos y composiciones descritos en el presente documento pueden usarse en combinación con otras modalidades terapéuticas. En algunas realizaciones, los métodos descritos en este documento incluyen administrar al sujeto una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, en combinación con un agente citotóxico, en una cantidad eficaz para tratar o prevenir dicho trastorno. La molécula de anticuerpo y el agente citotóxico pueden administrarse simultánea o secuencialmente.

Se puede usar cualquier combinación y secuencia de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 y otras modalidades terapéuticas. La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y/u otras modalidades terapéuticas pueden administrarse durante

los períodos de trastorno activo, o durante un período de remisión o enfermedad menos activa. La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y otras modalidades terapéuticas se pueden administrar antes del tratamiento, simultáneamente con el tratamiento, posterior al tratamiento o durante la remisión del trastorno.

En ciertas realizaciones, los métodos y composiciones descritos en este documento se administran en combinación con una o más de otras moléculas de anticuerpos, quimioterapia, otra terapia contra el cáncer (por ejemplo, terapias dirigidas contra el cáncer, terapia génica, terapia viral, terapia con ARN, trasplante de médula ósea, nanoterapia o medicamentos oncológicos), agentes citotóxicos, terapias basadas en el sistema inmunitario (por ejemplo, terapias inmunológicas basadas en citoquinas o en células), procedimientos quirúrgicos (por ejemplo, lumpectomía o mastectomía) o procedimientos de radiación, o una combinación de cualquiera de los anteriores. La terapia adicional puede ser en forma de terapia adyuvante o neoadyuvante. En algunas realizaciones, la terapia adicional es un inhibidor enzimático (por ejemplo, un inhibidor enzimático de molécula pequeña) o un inhibidor metastásico. Los ejemplos de agentes citotóxicos que pueden administrarse en combinación incluyen agentes antimicrotúbulos, inhibidores de topoisomerasa, antimetabolitos, inhibidores mitóticos, agentes alquilantes, antraciclinas, alcaloides de la vinca, agentes intercalantes, agentes capaces de interferir con una vía de transducción de señales, agentes que promueven la apoptosis, inhibidores del proteosoma y radiación (por ejemplo, irradiación local o de todo el cuerpo (por ejemplo, irradiación gamma). En otras realizaciones, la terapia adicional es cirugía o radiación, o una combinación de las mismas. En otras realizaciones, la terapia adicional es una terapia dirigida a uno o más de la vía PI3K/AKT/mTOR, un inhibidor de HSP90 o un inhibidor de la tubulina.

Como alternativa, o en combinación con las combinaciones mencionadas anteriormente, los métodos y composiciones descritos en el presente documento pueden administrarse en combinación con uno o más de: un inmunomodulador (por ejemplo, un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula inhibidora, por ejemplo, una molécula de punto de control inmune); una vacuna, por ejemplo, una vacuna terapéutica contra el cáncer; u otras formas de inmunoterapia celular.

Los ejemplos de combinaciones y usos no limitativos de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 incluyen las siguientes.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un modulador de una molécula coestimuladora o una molécula inhibidora, por ejemplo, un ligando o receptor coinhibitorio.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un modulador, por ejemplo, un agonista, de una molécula coestimuladora. En una realización, el agonista de la molécula coestimuladora se elige entre un agonista (por ejemplo, un anticuerpo agonista o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una fusión soluble) del ligando de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 o CD83.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de una molécula inhibidora (o punto de control inmunitario) elegida entre PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR beta. La inhibición de una molécula inhibidora se puede realizar por inhibición a nivel de ADN, ARN o proteína. En realizaciones, se puede usar un ácido nucleico inhibidor (por ejemplo, un ARNbc, ARNip o ARNhp), para inhibir la expresión de una molécula inhibidora. En otras realizaciones, el inhibidor de una señal inhibidora es, un polipéptido, por ejemplo, un ligando soluble, o un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a la molécula inhibidora. En una realización, el inhibidor es un ligando soluble (por ejemplo, un CTLA-4-Ig), o un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a PD-L1, PD-L2 o CTLA-4. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede administrarse en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, ipilimumab, por ejemplo, para tratar un cáncer (por ejemplo, un cáncer elegido de: un melanoma, por ejemplo, un melanoma metastásico, un cáncer de pulmón, por ejemplo, un carcinoma de pulmón de células no pequeñas; o un cáncer de próstata). En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra después del tratamiento con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab) con o sin un inhibidor de BRAF (por ejemplo, vemurafenib o dabrafenib).

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

En otras realizaciones más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 y un anticuerpo anti-TIM-3 (o fragmentos del mismo de unión a antígeno).

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-CEACAM. En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de CEACAM-1, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-CEACAM-1. En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de CEACAM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-CEACAM-3. En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de CEACAM-5, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-CEACAM-5.

La combinación de anticuerpos citados en el presente documento puede administrarse por separado, por ejemplo, como anticuerpos separados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, o unidos, por ejemplo, como una molécula de anticuerpo biespecífica o triespecífica. En una realización, se administra un anticuerpo biespecífico que incluye una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y un anticuerpo anti-PD-1, anti-CEACAM (por ejemplo, anti-CEACAM-1, anti-CEACAM-3 y/o anti-CEACAM-5), o anti-TIM-3, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertas realizaciones, la combinación de anticuerpos citados en el presente documento se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un tumor sólido o una neoplasia maligna hematológica).

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con una citoquina. La citoquina se puede administrar como una molécula de fusión a la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, o como composiciones separadas. En una realización, el anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con una, dos, tres o más citoquinas, por ejemplo, como una molécula de fusión o como composiciones separadas. En una realización, la citoquina es una interleuquina (IL) elegida entre una, dos, tres o más de IL-1, IL-2, IL-12, IL-15 o IL-21. En una realización, una molécula de anticuerpo biespecífica tiene una primera especificidad de unión a un primer objetivo (por ejemplo, a TIM-3), una segunda especificidad de unión a un segundo objetivo (por ejemplo, LAG-3 o PD-1), y está opcionalmente enlazada a un dominio de interleuquina (por ejemplo, IL-12) por ejemplo, IL-12 de longitud completa o una porción de la misma. En ciertas realizaciones, la combinación de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y la citoquina descrita en este documento se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en este documento (por ejemplo, un tumor sólido).

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un anticuerpo específico contra un HLA C, por ejemplo, un anticuerpo específico para los receptores tipo inmunoglobulina de células asesinas (también denominado en el presente documento como un "anticuerpo anti-KIR"). En ciertas realizaciones, la combinación de molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y anticuerpo anti-KIR se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un tumor sólido, por ejemplo, un tumor sólido avanzado).

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con una inmunoterapia celular (por ejemplo, Provenge® (por ejemplo, Sipuleucel-T)), y opcionalmente en combinación con ciclofosfamida. En ciertas realizaciones, la combinación de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, Provenge® y/o ciclofosfamida se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un cáncer de próstata, por ejemplo, un cáncer de próstata avanzado).

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con una vacuna, por ejemplo, una vacuna contra el cáncer (por ejemplo, una vacuna contra el carcinoma renal de células dendríticas (DC-RCC)). En una realización, la vacuna está basada en péptidos, basada en ADN, basada en ARN, o basada en antígeno, o una combinación de las mismas. En ciertas realizaciones, la vacuna comprende uno o más péptidos, ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN o ARN), antígenos, o una combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, la combinación de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y la vacuna DC-RCC se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un carcinoma renal, por ejemplo, carcinoma de células renales metastásico (RCC) o carcinoma de células renales de células claras (RCCC)).

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un adyuvante.

En otra realización más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con quimioterapia y/o inmunoterapia. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede usar para tratar un mieloma, solo o en combinación con uno o más de: quimioterapia u otros agentes anticancerosos (por ejemplo, análogos de la talidomida, por ejemplo, lenalidomida), un anticuerpo anti-PD-1, células dendríticas pulsadas con antígeno tumoral, fusiones (por ejemplo, electrofusiones) de células tumorales y células dendríticas, o vacunación con idiotipo de inmunoglobulina producido por células plasmáticas malignas. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 para tratar un mieloma, por ejemplo, un mieloma múltiple.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con quimioterapia para tratar un cáncer de pulmón, por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa con pulmón estándar, por ejemplo, NSCLC, quimioterapia, por ejemplo, terapia de doblete de platino, para tratar el cáncer de pulmón. En otras realizaciones más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con un inhibidor de la indolamina-pirrol 2,3-dioxigenasa (IDO) (por ejemplo, INCB24360) en un sujeto con cáncer avanzado o metastásico (por ejemplo, un paciente con cáncer de NSCLC metastásico y recurrente).

En otras realizaciones más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con una o más de: una estrategia basada en el sistema inmunitario (por ejemplo, interleuquina 2 o interferón α), un agente de direccionamiento (por ejemplo, un inhibidor de VEGF tal como un anticuerpo monoclonal contra VEGF); un inhibidor de tirosina quinasa de VEGF, como sunitinib, sorafenib, axitinib y pazopanib; un inhibidor de ARNi; o un inhibidor de un mediador secuencia abajo de la señalización de VEGF, por ejemplo, un inhibidor del objetivo mamíferos de la rapamicina (mTOR), por ejemplo, everolimus y temsirolimus. Cualquiera de tales combinaciones puede usarse para tratar un

cáncer renal, por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC) (por ejemplo, carcinoma de células renales de células claras (RCCCC) o RCC metastásico).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento, se usa en combinación con un inhibidor de MEK (por ejemplo, un inhibidor de MEK como se describe en el presente documento). En algunas realizaciones, la combinación del anticuerpo anti-TIM-3 y el inhibidor de MEK se usa para tratar un cáncer (por ejemplo, un cáncer descrito en el presente documento). En algunas realizaciones, el cáncer tratado con la combinación se elige entre un melanoma, un cáncer colorrectal, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer de ovario, un cáncer de mama, un cáncer de próstata, un cáncer de páncreas, una neoplasia maligna hematológica o un carcinoma de células renales. En ciertas realizaciones, el cáncer incluye una mutación BRAF (por ejemplo, una mutación BRAF V600E), una mutación de tipo silvestre de BRAF, de tipo silvestre de KRAS o una mutación activadora de KRAS. El cáncer puede estar en una etapa temprana, intermedia o tardía.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con uno, dos o todos de oxaliplatino, leucovorina o 5-FU (por ejemplo, un tratamiento conjunto con FOLFOX). Alternativamente o en combinación, la combinación incluye además un inhibidor de VEGF (por ejemplo, un inhibidor de VEGF como se describe en el presente documento). En algunas realizaciones, la combinación del anticuerpo anti-TIM-3, el tratamiento conjunto con FOLFOX y el inhibidor de VEGF se usa para tratar un cáncer (por ejemplo, un cáncer descrito en el presente documento). En algunas realizaciones, el cáncer tratado con la combinación se elige entre un melanoma, un cáncer colorrectal, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer de ovario, un cáncer de mama, un cáncer de próstata, un cáncer de páncreas, una neoplasia maligna hematológica o un carcinoma renal de células. El cáncer puede estar en una etapa temprana, intermedia o tardía.

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra con un inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, axitinib) para tratar el carcinoma de células renales y otros tumores sólidos.

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra con un agente de direccionamiento del receptor 4-1BB (por ejemplo, un anticuerpo que estimula la señalización a través de 4-1BB (CD-137), por ejemplo, PF-2566). En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, axitinib) y un agente de direccionamiento del receptor 4-1BB.

La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede unir a una sustancia, por ejemplo, un agente o fracción citotóxica (por ejemplo, un fármaco terapéutico, un compuesto que emite radiación; moléculas de origen vegetal, fúngico o bacteriano; o una proteína biológica (por ejemplo, una toxina proteica) o partícula (por ejemplo, una partícula viral recombinante, por ejemplo, a través de una proteína de cubierta viral). Por ejemplo, el anticuerpo se puede acoplar a un isótopo radiactivo tal como un emisor α , β o γ , o un emisor β y γ .

Terapias de combinación adicionales

Los métodos y composiciones descritos en este documento (por ejemplo, anticuerpos anti-TIM-3 y métodos para usarlos) pueden usarse en combinación con otros agentes o modalidades terapéuticas, por ejemplo, un segundo agente terapéutico elegido de uno o más de los agentes enumerados en la Tabla 6. En una realización, los métodos descritos en este documento incluyen administrar al sujeto una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento (opcionalmente en combinación con uno o más inhibidores de PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1 y/o CEACAM-5), o CTLA-4)), incluyen además la administración de un segundo agente terapéutico elegido de uno o más de los agentes enumerados en la Tabla 6, en una cantidad efectiva para tratar o prevenir un trastorno, por ejemplo, un trastorno como se describe en el presente documento, por ejemplo, un cáncer. Cuando se administra en combinación, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, el agente adicional (por ejemplo, el segundo o el tercer agente), o todos, se pueden administrar en una cantidad o dosis que sea mayor, menor o igual que la cantidad o dosis de cada agente utilizado individualmente, por ejemplo, como una monoterapia. En ciertas realizaciones, la cantidad o dosis administrada del anticuerpo anti-TIM-3, el agente adicional (por ejemplo, segundo o tercer agente), o todo, es menor (por ejemplo, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos 40%, o al menos 50%) que la cantidad o dosis de cada agente utilizado individualmente, por ejemplo, como monoterapia. En otras realizaciones, la cantidad o la dosis del anticuerpo anti-TIM-3, el agente adicional (por ejemplo, segundo o tercer agente), o todo, que resulta en un efecto deseado (por ejemplo, tratamiento del cáncer) es menor (por ejemplo, al menos el 20%, al menos el 30%, al menos el 40%, o al menos el 50% más bajo).

En otras realizaciones, el segundo agente terapéutico se elige de uno o más de los agentes enumerados en la Tabla 6. En una realización, el cáncer se elige de un cáncer de pulmón (por ejemplo, un cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) (por ejemplo, un NSCLC con histología escamosa y/o no escamosa, o un adenocarcinoma NSCLC), o se describe en una publicación enumerada en la Tabla 6. En algunas realizaciones, el segundo agente terapéutico se elige de uno o más de: 1) un inhibidor de la proteína quinasa C (PKC); 2) un inhibidor de la proteína de choque térmico 90 (HSP90); 3) un inhibidor de una fosfoinositida 3-quinasa (PI3K) y/o objetivo de rapamicina (mTOR); 4) un inhibidor del citocromo P450 (por ejemplo, un inhibidor de CYP17 o un inhibidor de 17 α -hidroxilasa/C17-20 liasa); 5) un agente quelante de hierro; 6) un inhibidor de aromatasa; 7) un inhibidor de p53, por ejemplo, un inhibidor de una interacción p53/Mdm2; 8) un inductor de apoptosis; 9) un inhibidor de la angiogénesis; 10) un inhibidor de la

aldosterona sintasa; 11) un inhibidor del receptor suavizado (SMO); 12) un inhibidor del receptor de prolactina (PRLR); 13) un inhibidor de señalización Wnt; 14) un inhibidor de CDK4/6; 15) un inhibidor del receptor 2 de factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR2)/receptor 4 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR4); 16) un inhibidor del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF); 17) un inhibidor de uno o más de c-KIT, liberación de histamina, Flt3 (por ejemplo, FLK2/STK1) o PKC; 18) un inhibidor de uno o más de VEGFR-2 (por ejemplo, FLK-1/KDR), PDGFRbeta, c-KIT o Raf quinasa C; 19) un agonista de la somatostatina y/o un inhibidor de la liberación de la hormona del crecimiento; 20) un inhibidor de quinasa de linfoma anaplásico (ALK); 21) un inhibidor del receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGF-1R); 22) un inhibidor de la P-glicoproteína 1; 23) un inhibidor del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR); 24) un inhibidor de BCR-ABL quinasa; 25) un inhibidor de FGFR; 26) un inhibidor de CYP11B2; 27) un inhibidor de HDM2, por ejemplo, un inhibidor de la interacción HDM2-p53; 28) un inhibidor de una tirosina quinasa; 29) un inhibidor de c-MET; 30) un inhibidor de JAK; 31) un inhibidor de DAC; 32) un inhibidor de la 11 β -hidroxilasa; 33) un inhibidor de IAP; 34) un inhibidor de la PIM quinasa; 35) un inhibidor de porcupina; 36) un inhibidor de BRAF, por ejemplo, BRAF V600E o BRAF de tipo silvestre; 37) un inhibidor de HER3; 38) un inhibidor de MEK; o 39) un inhibidor de una lípido quinasa, por ejemplo, como se describe en el presente documento y en la Tabla 6.

En una realización, el segundo agente terapéutico se elige entre uno o más de: Compuesto A8, Compuesto A17, Compuesto A23, Compuesto A24, Compuesto A27, Compuesto A29, Compuesto A33 y Compuesto A13.

En otras realizaciones, el segundo agente terapéutico se elige entre uno o más de: Compuesto A5, Compuesto A8, Compuesto A17, Compuesto A23, Compuesto A24, Compuesto A29 y Compuesto A40.

En otras realizaciones, el segundo agente terapéutico se elige entre uno o más de los siguientes: Compuesto A9, Compuesto A16, Compuesto A17, Compuesto A21, Compuesto A22, Compuesto A25, Compuesto 28, Compuesto A48 y Compuesto 49.

En otras realizaciones, el segundo agente terapéutico se elige de un modulador de una vía apoptótica, por ejemplo, un inhibidor de IDH1, o un inhibidor de Bcl-2 o Bcl-XL. En una realización, el segundo agente terapéutico se elige entre el Compuesto A21, A14 o una combinación de los mismos. Sin querer restringirse a ninguna teoría particular, se sabe que TIM-3 interactúa con PtdSer, que tiende a estar expuesto en la superficie de las células apoptóticas, y puede causar inmunosupresión. El bloqueo de una interacción PtdSer-TIM-3, por ejemplo, usando una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento puede mejorar o superar la inmunosupresión.

En otras realizaciones, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de CSF-1R, por ejemplo, un anticuerpo anti-CSF-1R o un inhibidor de molécula pequeña (tal como el Compuesto A15 o A33). Estos segundos agentes terapéuticos pueden inhibir macrófagos (por ejemplo, macrófagos M2). En ciertas realizaciones, dichos segundos agentes terapéuticos pueden facilitar la conversión a macrófagos M1.

En realizaciones, el segundo agente terapéutico se administra a una dosis terapéutica o inferior a la terapéutica. En ciertas realizaciones, la concentración del segundo agente terapéutico que se requiere para lograr la inhibición, por ejemplo, la inhibición del crecimiento, es menor cuando el segundo agente terapéutico se administra en combinación con la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 que cuando el segundo agente terapéutico es administrado individualmente. En ciertas realizaciones, la concentración de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 que se requiere para lograr la inhibición, por ejemplo, la inhibición del crecimiento, es menor cuando la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con el segundo agente terapéutico que cuando la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra individualmente. En ciertas realizaciones, en una terapia de combinación, la concentración del segundo agente terapéutico que se requiere para lograr la inhibición, por ejemplo, la inhibición del crecimiento, es menor que la dosis terapéutica del segundo agente terapéutico como una monoterapia, por ejemplo, 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80%, o 80-90% más baja. En ciertas realizaciones, en una terapia de combinación, la concentración de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 que se requiere para lograr la inhibición, por ejemplo, la inhibición del crecimiento, es menor que la dosis terapéutica de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como una monoterapia, por ejemplo, 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80%, o 80-90% más baja.

Detección

En algunos aspectos, la presente descripción proporciona métodos para detectar la presencia de TIM-3 en una muestra, por ejemplo, *in vitro* o *in vivo* (por ejemplo, una muestra biológica, por ejemplo, sangre, suero, semen u orina, o una biopsia de tejido, por ejemplo, de una lesión hiperproliferativa o cancerosa). Los métodos en este documento se pueden usar para evaluar (por ejemplo, monitorear el tratamiento o la progresión, el diagnóstico y/o la etapa de un trastorno descrito en este documento, por ejemplo, un trastorno inmunitario, un cáncer o una enfermedad infecciosa, en un sujeto). El método puede incluir: (i) poner en contacto la muestra con (y opcionalmente, una referencia, por ejemplo, una muestra de control), o administrar al sujeto, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, en condiciones que permitan que ocurra la interacción, y (ii) detectar si hay formación de un complejo entre la molécula de anticuerpo y la muestra (y opcionalmente, la referencia, por ejemplo, control, muestra). La formación del complejo es indicativa de la presencia de TIM-3, y puede indicar la idoneidad o necesidad de un tratamiento descrito en este documento. El método puede involucrar, por ejemplo, una inmunohistoquímica,

inmunocitoquímica, citometría de flujo, perlas magnéticas complejadas con moléculas de anticuerpos, ensayos ELISA, técnicas de PCR (por ejemplo, RT-PCR).

Típicamente, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 utilizada en los métodos de diagnóstico *in vivo* e *in vitro* se marca directa o indirectamente con una sustancia detectable para facilitar la detección del agente de unión, unido o no unido. Las sustancias detectables adecuadas incluyen diversas enzimas biológicamente activas, grupos protésicos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales paramagnéticos (por ejemplo, activos a la resonancia magnética nuclear) y materiales radiactivos.

Realizaciones adicionales proporcionan un método para tratar un cáncer, que comprende: identificar en una muestra (por ejemplo, una muestra de un sujeto que comprende células cancerosas y opcionalmente células inmunitarias como TIL) la presencia de uno, dos o todos de PD-L1, CD8 o IFN- γ , lo que proporciona un valor para uno, dos o todos los PD-L1, CD8 e IFN- γ . El método puede incluir además comparar los valores de PD-L1, CD8 y/o IFN- γ con un valor de referencia, por ejemplo, un valor de control. Si los valores de PD-L1, CD8 y/o IFN- γ son mayores que el valor de referencia, por ejemplo, los valores de control, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-TIM-3 (por ejemplo, un anticuerpo anti-TIM-3 descrito en el presente documento) al sujeto, opcionalmente en combinación con uno o más agentes, para tratar así el cáncer. El cáncer puede ser, por ejemplo, un cáncer descrito en el presente documento, tal como cáncer de pulmón (escamoso), cáncer de pulmón (adenocarcinoma), cáncer de cabeza y cuello, cáncer cervical (escamoso), cáncer de estómago, cáncer de tiroides, melanoma, cáncer nasofaríngeo o cáncer de mama, por ejemplo, cáncer de mama TN, por ejemplo, cáncer de mama IM-TN. En algunas realizaciones, el cáncer es el cáncer de mama ER+ o el cáncer de páncreas.

También se proporciona un método para tratar un cáncer, que comprende: analizar una muestra (por ejemplo, una muestra de un sujeto que comprende células cancerosas) para detectar la presencia de PD-L1, identificando así un valor de PD-L1, comparando el valor de PD-L1 con un valor de control, y si el valor de PD-L1 es mayor que el valor de control, administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-TIM-3 (por ejemplo, un anticuerpo anti-TIM-3 descrito en el presente documento) al sujeto, opcionalmente en combinación con uno o más de otros agentes, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-PD-1, para tratar así el cáncer. El cáncer puede ser, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento, dicho cáncer es adenocarcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) (ACA), carcinoma de células escamosas NSCLC (SCC), o carcinoma hepatocelular (CHC).

En algunos aspectos, la presente descripción proporciona kits de diagnóstico o terapéuticos que incluyen las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento e instrucciones de uso.

La descripción contempla todas las combinaciones de uno o más de los aspectos y/o realizaciones anteriores, así como combinaciones con una o más de las realizaciones expuestas en la descripción detallada y los ejemplos.

Otras características, objetivos y ventajas de las composiciones y métodos en este documento serán evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y de las reivindicaciones.

A continuación se proporcionan figuras y tablas.

Breve descripción de las figuras

Cada una de las figuras se describe en el presente documento con más detalle.

Las Figuras 1A-1B ilustran ejemplos de anticuerpos anti-TIM-3. La Figura 1A proporciona las regiones variables de la cadena pesada y la cadena ligera de ABTIM3 (SEQ ID NOS: 1 y 2, respectivamente, en orden de aparición). La Figura 1B proporciona una alineación de secuencia entre las regiones variables de ABTIM3 y los anticuerpos de línea germinal murinos (ratón) (SEQ ID NOS: 134 y 135, respectivamente, en orden de aparición). Las CDR están encuadrados (representadas en texto blanco sobre un fondo negro en los documentos de prioridad).

Las Figuras 2A-2E ilustran la unión y la actividad de varios anticuerpos anti-TIM-3. La Figura 2A resume los datos de afinidad para el anticuerpo murino ABTIM3 y otro anticuerpo de unión a TIM-3. La Figura 2B muestra una curva de unión de un panel de anticuerpos para TIM-3 humana en células transfectadas. La Figura 2C muestra una curva de unión de un segundo panel de anticuerpos, que incluye ABTIM3 (triángulos) para TIM-3 humana en células transfectadas. La Figura 2D muestra una curva de unión de ABTIM3 y otros anticuerpos anti-TIM-3 para TIM-3 de mono cynomolgus. La Figura 2E muestra la afinidad de varios anticuerpos anti-TIM-3 para TIM-3 de mono de cynomolgus. El anticuerpo monoclonal ABTIM3 tiene la afinidad más alta de los anticuerpos probados en estos experimentos, lo que indica que tiene una buena reactividad cruzada con objetivos humanos y de mono.

Las Figuras 3A-3B muestran que los anticuerpos monoclonales anti-TIM-3, incluidos ABTIM3, se unen al dominio de IgV, mientras que 4A4 se une al dominio de mucina. La Figura 3A ilustra el constructo recombinante utilizado para el análisis de epítomos. La Figura 3B muestra que el anticuerpo monoclonal anti-TIM-3 (anti-TIM-3 # 3) y los anticuerpos monoclonales de control anti-PD-L1 (anti-PD-L1 # 1 y # 2), se unen a la proteína quimérica de la Figura 3A, mientras que anti-TIM-3 # 2 y ABTIM3 no se unen sustancialmente.

La Figura 4 ilustra que los anticuerpos anti-TIM-3, anti-TIM-3 # 2 y ABTIM3 bloquean la unión de TIM-3 a PtdSer (fosfatidilserina).

Las Figuras 5A-5B ilustran que el anticuerpo anti-TIM-3, ABTIM3 mejora la secreción y proliferación de IFN-gamma en células T CD4⁺ estimuladas con IL-12. La Figura 5A muestra los resultados de un experimento representativo en el que las células fueron expuestas a los anticuerpos ABTIM3, anti-TIM-3 # 2, mlgG1 y al anticuerpo de control anti-PD-L1 (de izquierda a derecha). Los niveles de IFN-gamma se midieron por citometría de flujo. La Figura 5B cuantifica la expresión de IFN-gamma en células expuestas a estos cuatro anticuerpos.

La Figura 6 muestra que un bloqueo ABTIM3 mejora la actividad citotóxica *in vitro* de células NK purificadas.

La Figura 7 muestra que los anticuerpos anti-TIM-3 humanizados compitieron por la unión con el anticuerpo ABTIM3 murino parental en un ensayo FACS.

Las Figuras 8A-8B ilustran que los anticuerpos anti-TIM-3 humanizados se unen a células que expresan TIM-3 humana. La Figura 8A muestra que los anticuerpos anti-TIM-3 humanizados se unen a las células que expresan huTIM-3 en un ensayo FACS. La Figura 8B muestra que los anticuerpos anti-TIM-3 humanizados compitieron con el ABTIM3 murino parental para células que expresan huTIM-3 en un ensayo FACS.

Las Figuras 9A-9B ilustran la estructura de la unión de Fab ABTIM3-hum21 a TIM-3. La Figura 9A muestra la estructura general de la unión de Fab ABTIM3-hum21 a TIM-3. En la figura se indican 1) el PtdSer, deducidos y los sitios de unión de Ca²⁺ y Galectina-9 en TIM-3 humana y 2) los nombres de las cadenas β y los bucles BC, FG y CC'. La Figura 9B muestra una vista detallada de los residuos del epítipo ABTIM3-hum21 en TIM-3 (que se muestra como barras y etiquetados). La Figura 9B describe los residuos 56-61 ("GACPVF") como la SEQ ID NO: 136 y los residuos 119-127 ("NDEKFNKL") como la SEQ ID NO: 137.

Las Figuras 10A-10C muestran la comparación del epítipo ABTIM3-hum21 con el sitio de unión a CEACAM-1 en TIM-3 humana. La Figura 10A muestra la comparación de los residuos cruciales de unión a CEACAM-1 de TIM-3 (residuos 117-120 ("IMND")) descritos como la SEQ ID NO: 138) (panel izquierdo, superficie gris, los residuos están etiquetados) y el epítipo ABTIM3-hum21 (panel derecho, superficie gris, los residuos que se superponen con el sitio de unión a CEACAM1 están etiquetados). Dado que TIM-3 está orientado de la misma manera en ambos paneles, es obvio que el epítipo ABTIM3-hum21 se superpone con el sitio de unión a CEACAM-1. La Figura 10B muestra que el K122 de TIM-3 forma enlaces de hidrógeno con CEACAM-1 (panel izquierdo), y está completamente bloqueado por ABTIM3-hum21 (panel derecho). La Figura 10C muestra vistas en dos ángulos de la superposición de las estructuras TIM-3/ABTIM3-hum21 Fab y TIM-3/CEACAM-1, que muestran un choque significativo entre ABTIM3-hum21 y TIM-3, lo que indica que ABTIM3-hum21 interrumpirá la unión de CEACAM 1 a TIM-3.

La Figura 11 ilustra la comparación de la penetración de la membrana mediada por PtdSer de TIM-3 de ratón (panel izquierdo) y la unión de ABTIM3-hum21 a TIM-3 humana (panel derecho). Las dos estructuras TIM-3 están orientadas de la misma manera. El ángulo de ataque de ABTIM3-hum21 es similar a la orientación de la membrana penetrada por TIM-3, lo que sugiere que ABTIM3-hum21 evitará la penetración de TIM-3 mediada por PtdSer.

La Figura 12 muestra las indicaciones de cáncer con la expresión más alta de TIM-3 (HAVCR2) de la base de datos TCGA.

La Figura 13 muestra las indicaciones de cáncer con la más alta expresión de una firma de expresión de macrófagos de la base de datos TCGA.

La Figura 14 muestra ejemplos de cáncer que tienen proporciones relativamente altas de pacientes que son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ .

La Figura 15 muestra ejemplos de cáncer de mama ER+ y cáncer pancreático con proporciones relativamente bajas para pacientes que son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ .

La Figura 16 muestra la proporción de ejemplos de pacientes con cáncer de mama que son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ .

La Figura 17 muestra la proporción de ejemplos de pacientes con cáncer de colon que son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ .

La Figura 18 muestra los péptidos que son monitorizados en los experimentos de HDx-MS en la TIM-3 humana (residuos 23 a 135 ("SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWKGACPVFECGNWLRTERDQVNYWTSRYWLNQDFRKGVDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPAKVT")) como la SEQ ID NO: 139). Cada barra representa un péptido.

La Figura 19 ilustra la diferencia en la captación de deuterio para el complejo TIM-3 ABTIM3-hum03 (barras grises) y el complejo TIM-3 ABTIM3-hum11 (barras negras) para los aminoácidos 22 a 127. Todas las diferencias son relativas a la captación de deuterio de TIM-3 no enlazada (control).

La Figura 20 muestra la competencia entre ABTIM3-hum21 y ABTIM3-hum03 y ABTIM3-hum11 para unirse a TIM3 humana, según lo determinado por el ensayo de citometría de flujo.

La Figura 21 muestra un sensograma representativo de un ensayo de competencia de Biacore que prueba la competencia entre un primer anticuerpo y un segundo anticuerpo por TIM-3 humana inmovilizada.

- 5 La Figura 22 muestra que ABTIM3 aumenta la proliferación en un cocultivo que contiene células dendríticas y células T (cocultivo DC-T). Los cocultivos DC-T se incubaron sin anticuerpo o una serie de dilución titulada (0.01-25 µg/mL) de los siguientes anticuerpos IgG1 de ratón (control), ABTIM3 o anticuerpo anti-TIM3 # 3.

- 10 Las Figuras 23A-23B muestran la concentración de ABTIM3-hum11 detectada en el suero a lo largo del tiempo en roedores. Las dosis indicadas se inyectaron en ratones o ratas y la concentración de anticuerpos en la sangre se calculó en los puntos de tiempo indicados. La Figura 23A muestra la concentración media en suero de BTIM3-hum11 en ratones después de la administración del anticuerpo. La Figura 23B muestra la concentración media en suero de ABTIM3-hum11 en ratas después de la administración del anticuerpo.

Breve descripción de las tablas

Cada una de las Tablas se describe en este documento con más detalle.

- 15 La Tabla 1 resume las secuencias del anticuerpo anti-TIM-3 murino, ABTIM3.

La Tabla 2 representa las secuencias de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada de ABTIM3 y el dominio variable de la cadena ligera.

La Tabla 3 representa las secuencias de aminoácidos de las CDR de la cadena pesada de ABTIM3 y las CDR de la cadena ligera.

- 20 La Tabla 4 es un resumen de las secuencias de aminoácidos y nucleótidos para las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 murinas y humanizadas. Las moléculas de anticuerpo incluyen ABTIM3 murino y anticuerpos anti-TIM-3 humanizados: ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, 25 ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23. Las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de las CDR de las cadenas pesada y ligera, las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera, y las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de las cadenas pesada y ligera se muestran en esta Tabla.

- 30 La Tabla 5 representa las secuencias de aminoácidos de la región constante de las cadenas pesada de IgG humana y la cadena ligera kappa humana.

La Tabla 6 es un resumen de los agentes terapéuticos seleccionados que pueden administrarse en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 y otros inmunomoduladores (por ejemplo, uno o más de: un activador de una molécula coestimuladora y/o un inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario) descritos en el presente documento. La Tabla 6 proporciona de izquierda a derecha lo siguiente: la designación del compuesto del segundo 35 agente terapéutico, la estructura del compuesto y la publicación o publicaciones de patentes que describen el compuesto.

La Tabla 7 resume los valores de K_D para la unión del anticuerpo anti-TIM-3 a PBMC activadas.

La Tabla 8 resume los valores de K_D para la unión del anticuerpo anti-TIM-3 al constructo de mucina PDV-L1 IgV/TIM-3.

- 40 La Tabla 9 resume los valores de K_D para un panel de anticuerpos anti-TIM-3 humanizados medidos por el ensayo de Biacore.

La Tabla 10 resume los valores de K_D para la unión del anticuerpo anti-TIM-3 a células que expresan TIM-3 humana.

La Tabla 11 resume los valores de K_D para la unión del anticuerpo anti-TIM-3 a TIM-3-Ig.

La Tabla 12 resume las secuencias de aminoácidos utilizadas para la determinación de la estructura cristalina.

- 45 La Tabla 13 resume los aminoácidos en TIM-3 y el anticuerpo anti-TIM-3 que participan en la interacción de unión.

La Tabla 14 resume los ciclos del ensayo de competencia de Biacore.

La Tabla 15 resume los resultados del ensayo de competencia de Biacore.

La Tabla 16 resume las propiedades farmacocinéticas de ABTIM3-hum1 1.

Descripción detallada

El dominio de inmunoglobulina de células T y el dominio 3 de mucina (TIM-3, también conocido como receptor 2 celular del virus de la Hepatitis A y HAVCR2) es una proteína de la superficie celular expresada, por ejemplo, en células T CD4+ y CD8+ activadas, células T reguladora natural (nTreg), células NK y células innatas, por ejemplo, macrófagos, monocitos y células dendríticas (DC). Por lo general, TIM-3 no se expresa en células T inalteradas, sino que se sobrerregula en las células T efectoras activadas, por ejemplo, en un subconjunto de células PD-1+. TIM-3 también se expresa en células reguladoras naturales en el sitio del tejido y en modelos murinos. Se ha demostrado que las Treg TIM-3+ tienen un fenotipo más supresor, mientras que también se ha demostrado que las Treg TIM-3+ se correlacionan con la gravedad de la enfermedad en NSCLC, carcinoma hepatocelular y de ovario. TIM-3 se expresa de forma constitutiva en DC, monocitos/macrófagos y células NK, y se ha demostrado que el bloqueo de TIM-3 se correlaciona con una mayor citotoxicidad en las células NK; aumento de la secreción de IL-12/TNF- α por monocitos/macrófagos; y aumento de la expresión de NF- κ B en DC. El bloqueo de TIM-3 (solo parcialmente y de forma aditiva o sinérgica en combinación con el bloqueo de la vía PD-1) ha demostrado una eficacia antitumoral en varios modelos de cáncer preclínico, incluido el carcinoma de colon CT26 (Sakuishi et al., J Exp Med. 2010; 207 (10): 2187-94), sarcoma WT3 y carcinoma de próstata TRAMP-C1 (Ngiow et al., Cancer Res. 2011; 71 (10): 3540-3551). Estudios recientes han destacado al TIM-3 como un jugador importante en el agotamiento y la supresión de las células T efectoras que tiene lugar en enfermedades inmunes crónicas tales como infección, por ejemplo, bacterias o virus, y cáncer tanto en humanos como en modelos experimentales. TIM-3 se ha descrito como un receptor inhibitorio en la sinapsis inmunológica, y el bloqueo de TIM-3 puede mejorar la respuesta inmunitaria contra una infección y cáncer.

Se ha demostrado que el bloqueo de TIM-3 restablece la actividad en células efectoras, tales como la secreción y proliferación de citoquinas. En poblaciones de células viralmente agotadas, por ejemplo, células infectadas con VCH, las células que expresan TIM-3 (células TIM3+) expresan menos TNF- α y citoquinas IFN- γ que las células negativas para TIM-3 en ambas poblaciones de células efectoras, células T CD4+ y CD8+ (Golden-Mason et al., 2009, J. Virol, 83: 9122). El bloqueo de TIM-3 restaura la proliferación en células T CD8+ de un paciente con HIV, o en células que recapitulan el agotamiento viral (Jones et al., 2008, J. Exp. Med., 205: 2763), o la proliferación y secreción de IFN- γ y/o TNF- α en células T específicas para NY-ESO-1 de las PBMC de pacientes metastásicos (Fourcade et al., 2010, J. Exp. Med., 207: 2175). El bloqueo de TIM-3 también puede disminuir la actividad supresora de las células T reguladoras. Se ha encontrado que las células T TIM-3+ se concentran en los tumores y contribuyen al entorno del inmunosupresor del tumor (Sakuishi et al., 2013, Oncoimmunology, 2: e23849; Gao et al., 2012, Plos One y Yan et al., 2013, Plos One.). Por lo tanto, el bloqueo de TIM-3, por ejemplo, por anticuerpos que inhiben la función de TIM-3, puede mejorar la respuesta inmune contra la infección y la inmunidad antitumoral.

TIM-3 también ha sido implicado en la regulación de la respuesta inmune a través de la actividad de los macrófagos. El bloqueo de TIM-3 conduce a un aumento en la producción de IL-12 mediada por TLR (Zhang et al., 2010, J Leukoc Biol, 91: 189). Por lo tanto, el bloqueo de TIM-3 puede aumentar las propiedades de estimulación inmune de los macrófagos para mejorar la respuesta inmune contra la infección y la actividad antitumoral.

TIM-3 tiene cinco ligandos reportados: Galectina-9 (Gal-9), fosfatidilserina (PtdSer), HMGB1, Semaforina-4A y CEACAM-1. La lectina galectina-9 de tipo S puede inhibir la función efectora de Th1 asociada con TIM-3 e inducir la apoptosis en células T que expresan TIM-3 en modelos murinos. PtdSer generalmente reside en el lado intracelular de la membrana plasmática, pero se voltea hacia el lado extracelular durante la apoptosis. PtdSer se une a una hendidura conservada en los tres miembros de la familia TIM humana (TIM-1, TIM-3, TIM-4). La inhibición de la unión de PtdSer a TIM-3 puede activar la respuesta de las células T. La galectina-9 es secretada por células tumorales y puede contribuir a la evasión de la inmunidad antitumoral. HMGB1 alarma al ADN, por lo que TIM-3 puede actuar como un "sumidero", puede prevenir las interacciones HMGB1/RAGE que estimulan la inmunidad innata. La Semaforina-4A y CEACAM-1 (otra molécula de punto de control inmunitario cuya inhibición puede mejorar la respuesta inmune) pueden interactuar con TIM-3. Tanto en forma cis como un heterodímero en células T como en forma trans como un ligando. La interacción entre CEACAM-1 y TIM-3 puede ayudar a mediar el bloqueo de la señalización de la respuesta inmune. El bloqueo simultáneo de TIM-3 y CEACAM-1 en el carcinoma de colon CT26 mostró una eficacia similar a la observada para el bloqueo conjunto de PD-L1 y TIM-3.

La cola citoplásmica de TIM-3 tiene siete sitios para la fosforilación de la tirosina y no tiene motivos inhibidores conocidos (es decir, ITIM), lo que sugiere que TIM-3 podría coestimularse con el receptor de células T, lo que lleva a un agotamiento funcional a través de un aumento de señalización de células T. TIM-3 puede interactuar con Fyn y facilitar la acumulación de las fosfatasa receptoras CD148 y CD45 en la sinapsis inmunológica. La presencia de CEACAM-1 como correceptor en el heterodímero TIM-3/CEACAM-1 sugiere que esta coexpresión puede conducir a una señalización inhibidora en células T a través del motivo ITIM en la cola citoplásmica de CEACAM-1 que se ha demostrado que interactúa tanto con SHP1 como con SHP2.

En este documento se describen moléculas de anticuerpos que se unen a TIM-3 con alta afinidad y especificidad. En una realización, se describen anticuerpos humanizados contra TIM-3. También se proporcionan aspectos adicionales de la divulgación que incluyen moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de anticuerpo, vectores de expresión, células huésped y métodos para elaborar las moléculas de anticuerpo. También se proporcionan inmunos conjugados, moléculas de anticuerpos multiespecíficas o biespecíficas y composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de anticuerpos. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente

documento se pueden usar (solas o en combinación con otros agentes o modalidades terapéuticas) para tratar, prevenir y/o diagnosticar trastornos inmunitarios, cáncer, enfermedades infecciosas, enfermedad de Crohn, sepsis, SIRS (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica), y glomerulonefritis. Por lo tanto, las composiciones y los métodos para detectar TIM-3, así como los métodos para tratar diversos trastornos, incluidos el cáncer y los trastornos inmunitarios que usan las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, se describen en el presente documento.

El término "TIM-3" incluye isoformas, TIM-3 de mamífero por ejemplo, humana, especies homólogas de TIM-3 humana y análogos que comprenden al menos un epítipo común con TIM-3. Las secuencias de aminoácidos de TIM-3, por ejemplo, TIM-3 humana, se conocen en la técnica, por ejemplo, Sabatos et al., 2003. Nat Immunol, 4 (11): 1102.

Definiciones

Como se usa en el presente documento, los artículos "un" y "uno, una" se refieren a uno o más de uno (por ejemplo, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo.

El término "o" se usa en este documento para significar, y se usa de manera intercambiable con, el término "y/o", a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

"Cerca de" y "aproximadamente" significarán generalmente un grado de error aceptable para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Los ejemplos de grados de error están dentro del 20 por ciento (%), generalmente, dentro del 10%, y más típicamente, dentro del 5% de un valor o rango de valores dado.

Las composiciones y métodos descritos en este documento abarcan polipéptidos y ácidos nucleicos que tienen las secuencias especificadas, o secuencias sustancialmente idénticas o similares a las mismas, por ejemplo, secuencias al menos 85%, 90%, 95% idénticas o superiores a la secuencia especificada. En el contexto de una secuencia de aminoácidos, el término "sustancialmente idéntico" se usa en este documento para referirse a un primer aminoácido que contiene un número suficiente o mínimo de residuos de aminoácidos que son i) idénticos a, o ii) sustituciones conservadoras residuos de aminoácidos alineados en una segunda secuencia de aminoácidos de manera que la primera y la segunda secuencia de aminoácidos pueden tener un dominio estructural común y/o una actividad funcional común. Por ejemplo, secuencias de aminoácidos que contienen un dominio estructural común que tiene al menos aproximadamente el 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad con una secuencia de referencia, por ejemplo, una secuencia proporcionada en el presente documento.

En el contexto de secuencia de nucleótidos, el término "sustancialmente idéntica" se usa en el presente documento para referirse a una primera secuencia de ácido nucleico que contiene un número suficiente o mínimo de nucleótidos que son idénticos a los nucleótidos alineados en una segunda secuencia de ácido nucleico tal que la primera y la segunda secuencias de nucleótidos codifican un polipéptido que tiene actividad funcional común, o codifican un dominio polipeptídico estructural común o una actividad polipeptídica funcional común. Por ejemplo, las secuencias de nucleótidos que tienen al menos aproximadamente 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad con una secuencia de referencia, por ejemplo, una secuencia proporcionada en este documento.

El término "variante funcional" se refiere a polipéptidos que tienen una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a la secuencia que ocurre naturalmente, o están codificadas por una secuencia de nucleótidos sustancialmente idéntica, y son capaces de tener una o más actividades de la secuencia que ocurre naturalmente.

Para determinar el porcentaje de identidad de dos secuencias de aminoácidos, o de dos secuencias de ácidos nucleicos, las secuencias se alinean con fines de comparación óptimos (por ejemplo, se pueden introducir huecos en uno o ambos de una primera y una segunda secuencia de aminoácido o de ácidos nucleicos para el alineamiento óptimo y las secuencias no homólogas pueden ignorarse con fines de comparación). En una realización preferida, la longitud de una secuencia de referencia alineada con fines de comparación es al menos 30%, por ejemplo, al menos 40%, 50%, 60%, por ejemplo, al menos 70%, 80%, 90%, 100% de la longitud de la secuencia de referencia. Luego se comparan los residuos de aminoácidos o nucleótidos en las posiciones de aminoácidos o posiciones de nucleótidos correspondientes. Cuando una posición en la primera secuencia está ocupada por el mismo residuo de aminoácido o nucleótido que la correspondiente posición en la segunda secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición.

El porcentaje de identidad entre las dos secuencias es una función del número de posiciones idénticas compartidas por las secuencias, teniendo en cuenta el número de huecos y la longitud de cada hueco, que deben introducirse para una alineación óptima de las dos secuencias

La comparación de secuencias y la determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias se puede lograr utilizando un algoritmo matemático. En algunas realizaciones, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos se determina utilizando el algoritmo de Needleman y Wunsch ((1970) J. Mol. Biol. 48: 444-453) que se ha incorporado al programa GAP en el paquete de software GCG. (disponible en <http://www.gcg.com>), ya sea utilizando una matriz Blossum 62 o una matriz PAM250 y una ponderación de hueco de 16, 14, 12, 10, 8, 6 o 4 y una ponderación de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. En ciertas realizaciones, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de nucleótidos se determina usando el programa GAP en el paquete de software GCG (disponible en <http://www.gcg.com>), usando una matriz NWSgapdna.CMP y una ponderación de hueco de 40, 50, 60, 70 u 80 y una

ponderación de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6. Un conjunto de parámetros adecuado (y el que se debe usar a menos que se especifique lo contrario) son la matriz de puntuación de Blossum 62 con una penalización de hueco de 12, una penalización por extensión de hueco de 4 y una penalización por cambio de marco del hueco de 5.

- 5 El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos o nucleótidos se puede determinar utilizando el algoritmo de E. Meyers y W. Miller ((1989) CABIOS, 4: 11-17) que se ha incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de hueco de 12 y una penalización de hueco de 4.

- 10 Las secuencias de ácido nucleico y proteína descritas en el presente documento pueden usarse como una "secuencia de consulta" para realizar una búsqueda en bases de datos públicas para, por ejemplo, identificar otros miembros de la familia o secuencias relacionadas. Dichas búsquedas se pueden realizar utilizando los programas NBLAST y XBLAST (versión 2.0) de Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-10. Las búsquedas de nucleótidos por BLAST se pueden realizar con el programa NBLAST, puntuación = 100, longitud de palabra = 12 para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a un ácido nucleico como se describe en este documento. Las búsquedas de proteínas por BLAST se pueden realizar con el programa XBLAST, puntuación = 50, longitud de palabra = 3 para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a las moléculas de proteínas descritas en este documento. Para obtener alineaciones con huecos con fines de comparación, se puede utilizar Gapped BLAST como se describe en Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402. Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, se pueden usar los parámetros predeterminados de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST). Véase www.ncbi.nlm.nih.gov.

- 20 Como se usa en el presente documento, el término "hibrida en condiciones de baja rigurosidad, rigurosidad media, alta rigurosidad o rigurosidad muy alta" describe las condiciones para la hibridación y el lavado. La guía para realizar reacciones de hibridación se puede encontrar en Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6. Los métodos acuosos y no acuosos se describen en esa referencia y pueden usarse cualquiera de los dos. Las condiciones de hibridación específicas a las que se hace referencia en el presente documento son las siguientes: 1) condiciones de hibridación de baja rigurosidad en cloruro de sodio/citrato de sodio 6X (SSC) a 25 aproximadamente 45 °C, seguidos de dos lavados en SSC 0.2X, SDS al 0.1% al menos a 50 °C (la temperatura de los lavados se puede aumentar a 55 °C para condiciones de baja rigurosidad); 2) las condiciones de hibridación de rigurosidad media en SSC 6X a aproximadamente 45 °C, seguido de uno o más lavados en SSC 0.2X, SDS al 0.1% a 60 °C; 3) condiciones de hibridación de alta rigurosidad en SSC 6X a aproximadamente 45 °C, seguidas de uno o más lavados en SSC 0.2X, SDS al 0.1% a 65 °C; y preferiblemente 4) las condiciones de hibridación de rigurosidad 30 muy alta son fosfato sódico 0.5 M, SDS al 7% a 65 °C, seguido de uno o más lavados con SSC 0.2X, SDS al 1% a 65 °C. Las condiciones de muy alta rigurosidad (4) son condiciones adecuadas y deben utilizarse a menos que se especifique lo contrario.

Se entiende que las moléculas descritas en el presente documento pueden tener sustituciones adicionales de aminoácidos conservadoras o no esenciales, que no tienen un efecto sustancial en sus funciones.

- 35 Una "sustitución de aminoácidos conservadora" es una en la que el residuo de aminoácido se reemplaza por un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. Las familias de residuos de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares se han definido en la técnica. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares sin carga (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína), 40 cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano), cadenas laterales con ramificación beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano, histidina).

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" (si se trata de una cadena sencilla) se usan indistintamente en este documento.

- 45 Los términos "ácido nucleico", "secuencia de ácido nucleico", "secuencia de nucleótidos" o "secuencia de polinucleótidos" y "polinucleótido" se usan de manera intercambiable.

- El término "aislado", como se usa en el presente documento, se refiere al material que se elimina de su entorno original o nativo (por ejemplo, entorno natural es si está presente de forma natural). Por ejemplo, un polinucleótido o polipéptido natural presente en un animal vivo no está aislado, pero el mismo polinucleótido o polipéptido, separado por 50 intervención humana de algunos o todos los materiales coexistentes en el sistema natural, está aislado. Dichos polinucleótidos podrían ser parte de un vector y/o tales polinucleótidos o polipéptidos podrían ser parte de una composición, y todavía estar aislados, ya que dicho vector o composición no es parte del entorno en el que se encuentra en la naturaleza.

- 55 Varios aspectos de las composiciones y métodos en el presente documento se describen con más detalle a continuación. Definiciones adicionales se establecen a lo largo de la memoria descriptiva.

Moléculas de anticuerpo

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo se une a una TIM-3 de mamífero, por ejemplo, humana. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo se une específicamente a un epítipo, por ejemplo, un epítipo lineal o conformacional, (por ejemplo, un epítipo como se describe en el presente documento) en TIM-3. En algunas realizaciones, el epítipo es al menos una porción del dominio IgV de TIM-3 humana o de cynomolgus.

Como se usa en el presente documento, el término "molécula de anticuerpo" se refiere a una proteína, por ejemplo, una cadena de inmunoglobulina o fragmento de la misma, que comprende al menos una secuencia del dominio variable de inmunoglobulina. El término "molécula de anticuerpo" incluye, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal (incluye un anticuerpo de longitud completa que tiene una región Fc de inmunoglobulina). En una realización, una molécula de anticuerpo comprende un anticuerpo de longitud completa, o una cadena de inmunoglobulina de longitud completa. En una realización, una molécula de anticuerpo comprende una unión a antígeno o un fragmento funcional de un anticuerpo de longitud completa, o una cadena de inmunoglobulina de longitud completa.

En una realización, una molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo monoespecífica y se une a un solo epítipo. Por ejemplo, una molécula de anticuerpo monoespecífica que tiene una pluralidad de secuencias de dominio variable de inmunoglobulina, cada una de las cuales se une al mismo epítipo o sustancialmente al mismo.

En una realización, una molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo multiespecífica, por ejemplo, comprende una pluralidad de secuencias de dominios variables de inmunoglobulina, en donde una primera secuencia de dominio variable de inmunoglobulina de la pluralidad tiene especificidad de unión para un primer epítipo y una segunda secuencia de dominio variable de inmunoglobulina de la pluralidad tiene especificidad de unión por un segundo epítipo. En una realización, el primer y segundo epítipos están en el mismo antígeno, por ejemplo, la misma proteína (o subunidad de una proteína multimérica). En una realización, el primer y segundo epítipos se superponen o se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y segundo epítipos no se superponen o no se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y segundo epítipos están en diferentes antígenos, por ejemplo, las diferentes proteínas (o diferentes subunidades de una proteína multimérica). En una realización, una molécula de anticuerpo multiespecífica comprende un tercer, cuarto o quinto dominio variable de inmunoglobulina. En una realización, una molécula de anticuerpo multiespecífica es una molécula de anticuerpo biespecífica, una molécula de anticuerpo trispecífica o una molécula de anticuerpo tetraespecífica.

En una realización, una molécula de anticuerpo multiespecífica es una molécula de anticuerpo biespecífica. Un anticuerpo biespecífico tiene especificidad para no más de dos antígenos. Una molécula de anticuerpo biespecífica se caracteriza por una primera secuencia de dominio variable de inmunoglobulina que tiene especificidad de unión por un primer epítipo y una segunda secuencia de dominio variable de inmunoglobulina que tiene especificidad de unión por un segundo epítipo. En una realización, el primer y segundo epítipos están en el mismo antígeno, por ejemplo, la misma proteína (o subunidad de una proteína multimérica). En una realización, el primer y segundo epítipos se superponen o se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y segundo epítipos no se superponen o no se superponen sustancialmente. En una realización, el primer y segundo epítipos están en diferentes antígenos, por ejemplo, las diferentes proteínas (o diferentes subunidades de una proteína multimérica). En una realización, una molécula de anticuerpo biespecífica comprende una secuencia de dominio variable de la cadena pesada y una secuencia de dominio variable de la cadena ligera que tienen especificidad de unión por un primer epítipo y una secuencia de dominio variable de la cadena pesada y una secuencia de dominio variable de la cadena ligera que tienen especificidad de unión por un segundo epítipo. En una realización, una molécula de anticuerpo biespecífica comprende una mitad de anticuerpo que tiene especificidad de unión por un primer epítipo y una mitad de anticuerpo que tiene especificidad de unión por un segundo epítipo. En una realización, una molécula de anticuerpo biespecífica comprende una mitad de anticuerpo, o un fragmento del mismo, que tiene especificidad de unión por un primer epítipo y una mitad de anticuerpo, o un fragmento del mismo, que tiene especificidad de unión por un segundo epítipo. En una realización, una molécula de anticuerpo biespecífica comprende un scFv, o fragmento del mismo, que tiene especificidad de unión por un primer epítipo y un scFv, o fragmento del mismo, que tiene especificidad de unión para un segundo epítipo. En una realización, el primer epítipo está ubicado en TIM-3 y el segundo epítipo está ubicado en PD-1, LAG-3, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), PD-L1, o PD-L2.

En una realización, una molécula de anticuerpo comprende un diacuerpo y una molécula de cadena sencilla, así como un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo (por ejemplo, Fab, F(ab')₂ y Fv). Por ejemplo, una molécula de anticuerpo puede incluir una secuencia de dominio variable de la cadena pesada (H) (abreviada en este documento como VH), y una secuencia de dominio variable de la cadena ligera (L) (abreviada en este documento como VL). En una realización, una molécula de anticuerpo comprende o consiste en una cadena pesada y una cadena ligera (denominada en el presente documento como la mitad de un anticuerpo). En otro ejemplo, una molécula de anticuerpo incluye dos secuencias de dominio variable de la cadena pesada (H) y dos secuencias de dominio variable de la cadena ligera (L), formando por lo tanto dos sitios de unión a antígeno, tales como Fab, Fab', F(ab')₂, Fc, Fd, Fd', Fv, anticuerpos de cadena sencilla (por ejemplo, scFv), anticuerpos de dominio variable sencillo, diacuerpos (anticuerpos dAb) (bivalentes y biespecíficos) y anticuerpos quiméricos (por ejemplo, humanizados), que pueden ser producidos mediante la modificación de anticuerpos completos o aquellos sintetizados nuevamente utilizando tecnologías de ADN recombinante. Estos fragmentos de anticuerpos funcionales conservan la capacidad de unirse selectivamente con sus respectivos antígeno o receptor. Los anticuerpos y fragmentos de anticuerpo pueden ser de cualquier clase de anticuerpos, incluidos, pero sin limitarse a, IgG, IgA, IgM, IgD e IgE, y de cualquier subclase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) de anticuerpos. La preparación de moléculas de anticuerpos pueden ser monoclonales o policlonales.

Una molécula de anticuerpo también puede ser un anticuerpo humano, humanizado, injertado en la CDR o generado *in vitro*. El anticuerpo puede tener una región constante de la cadena pesada elegida de, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. El anticuerpo también puede tener una cadena ligera elegida de, por ejemplo, kappa o lambda. El término "inmunoglobulina" (Ig) se usa de manera intercambiable con el término "anticuerpo" en el presente documento.

- 5 Los ejemplos de fragmentos de unión a antígeno de una molécula de anticuerpo incluyen: (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento de diacuerpo (dAb), que consiste en un dominio VH; (vi) un dominio variable de camélido o camelizado; (vii) un Fv cadena sencilla (scFv), véase, por ejemplo, Bird et al., (1988) Science 242: 423-426; y Huston et al., (1988) Proc. Natl Acad Sci. EE. UU. 85: 5879-5883; (viii) un anticuerpo de dominio único. Estos fragmentos de anticuerpo pueden obtenerse utilizando cualquier método adecuado, incluidas varias técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, y los fragmentos pueden seleccionarse para determinar su utilidad de la misma manera que los anticuerpos intactos.
- 10 El término "anticuerpo" incluye moléculas intactas así como también fragmentos funcionales de las mismas. Las regiones constantes de los anticuerpos se pueden alterar, por ejemplo, mutar, para modificar las propiedades del anticuerpo (por ejemplo, para aumentar o disminuir uno o más de: unión al receptor de Fc, glicosilación del anticuerpo, el número de residuos de cisteína, la función de las células efectoras, o la función del complemento).
- 15 Los anticuerpos descritos en este documento también pueden ser anticuerpos de dominio único. Los anticuerpos de dominio único pueden incluir anticuerpos cuyas regiones determinantes complementarias forman parte de un polipéptido de dominio único. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos de cadena pesada, anticuerpos naturalmente desprovistos de cadenas ligeras, anticuerpos de dominio único derivados de anticuerpos convencionales de 4 cadenas, anticuerpos modificados y andamiajes de dominio único distintos de los derivados de anticuerpos. Los anticuerpos de dominio único pueden ser cualquiera de la técnica, o cualquier anticuerpo futuro de dominio único. Los anticuerpos de dominio único pueden derivarse de cualquier especie, incluyendo, pero sin limitarse a, ratón, humano, camello, llama, pez, tiburón, cabra, conejo y bovino. De acuerdo con algunos aspectos, un anticuerpo de dominio único es un anticuerpo de dominio único de origen natural conocido como anticuerpo de cadena pesada desprovisto de cadenas ligeras. Tales anticuerpos de dominio único se describen en el documento WO 9404678, por ejemplo. Por razones de claridad, este dominio variable derivado de un anticuerpo de cadena pesada naturalmente desprovisto de cadena ligera se conoce en el presente documento como VHH o nanocuerpo para distinguirlo del VH convencional de inmunoglobulinas de cuatro cadenas. Dicha molécula de VHH puede derivarse de anticuerpos producidos en especies de camélidos, por ejemplo, en camello, llama, dromedario, alpaca y guanaco. Otras especies además de los camélidos pueden producir anticuerpos de cadena pesada naturalmente desprovistos de la cadena ligera; tales VHH también se contemplan.
- 20 Las regiones de VH y VL pueden subdividirse en regiones de hipervariabilidad, denominadas "regiones determinantes de complementariedad" (CDRs), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas "regiones marco" (FR). La extensión de la región marco y las CDR se ha definido con precisión mediante varios métodos (véase, Kabat, EA, et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, quinta edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU., publicación del NIH No. 91-3242; Chothia, C. et al., (1987) J. Mol. Biol. 196: 901-917; y la definición de AbM utilizada por el software de modelamiento de anticuerpos Oxford Molecular's AbM. Véase, en general, por ejemplo, Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. En: Antibody Engineering Lab Manual (Editorial: Duebel, S. y Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). En algunas realizaciones, se utilizan las siguientes definiciones: definición de AbM de CDR1 del dominio variable de la cadena pesada y definiciones de Kabat para las otras CDR. En ciertas realizaciones, las definiciones de Kabat se usan para todas las CDR. Además, las realizaciones descritas con respecto a las CDR de Kabat o AbM también pueden implementarse utilizando bucles hipervariables de Chothia. Cada VH y VL típicamente incluye tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo terminal amino hasta el extremo terminal carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.
- 25 Como se usa en el presente documento, una "secuencia de dominio variable de inmunoglobulina" se refiere a una secuencia de aminoácidos que puede formar la estructura de un dominio variable de inmunoglobulina. Por ejemplo, la secuencia puede incluir la totalidad o parte de la secuencia de aminoácidos de un dominio variable de origen natural. Por ejemplo, la secuencia puede o no incluir uno, dos o más aminoácidos del extremo terminal N o C, o puede incluir otras alteraciones que sean compatibles con la formación de la estructura de la proteína.
- 30 El término "sitio de unión a antígeno" se refiere a la parte de una molécula de anticuerpo que comprende determinantes que forman una interfaz que se une a un polipéptido TIM-3, o un epítipo del mismo. Con respecto a las proteínas (o miméticos de proteínas), el sitio de unión al antígeno incluye típicamente uno o más bucles (de al menos, por ejemplo, cuatro aminoácidos o miméticos de aminoácidos) que forman una interfaz que se une al polipéptido TIM-3. Típicamente, el sitio de unión a antígeno de una molécula de anticuerpo incluye al menos una o dos CDR, o más típicamente al menos tres, cuatro, cinco o seis CDR.
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55

Los términos "competencia" o "competencia cruzada" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a la capacidad de una molécula de anticuerpo para interferir con la unión de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 proporcionada en este documento, a un objetivo, por ejemplo, TIM-3 humana. La interferencia con la unión puede ser directa o indirecta (por ejemplo, a través de una modulación alostérica de la molécula de anticuerpo o el objetivo). El grado en que una molécula de anticuerpo puede interferir con la unión de otra molécula de anticuerpo al objetivo y, por lo tanto, si se puede decir que compite, se puede determinar utilizando un ensayo de unión competitiva, por ejemplo, un ensayo FACS, un ensayo ELISA o BIACORE. En algunas realizaciones, un ensayo de unión competitiva es un ensayo cuantitativo de competición. En algunas realizaciones, se dice que una primera molécula de anticuerpo anti-TIM-3 compite por la unión al objetivo con una segunda molécula de anticuerpo anti-TIM-3 cuando la unión de la primera molécula de anticuerpo al objetivo se reduce en un 10% o más, por ejemplo, 20% o más, 30% o más, 40% o más, 50% o más, 55% o más, 60% o más, 65% o más, 70% o más, 75% o más, 80% o más, 85% o más, 90% o más, 95% o más, 98% o más, 99% o más en un ensayo de unión competitiva (por ejemplo, un ensayo competitivo descrito en este documento).

Como se usa en el presente documento, el término "epítipo" se refiere a las fracciones de un antígeno (por ejemplo, TIM-3 humana) que interactúa específicamente con una molécula de anticuerpo. Tales fracciones, denominadas en el presente documento como determinantes epitópicos, típicamente comprenden, o forman parte de, elementos tales como cadenas laterales de aminoácidos o cadenas laterales de azúcar. Un determinante epitópico se puede definir mediante métodos conocidos en la técnica o descritos en este documento, por ejemplo, mediante cristalografía o mediante intercambio de hidrógeno-deuterio. Al menos una o algunas de las fracciones en la molécula de anticuerpo, que interactúan específicamente con un determinante epitópico, se encuentran típicamente en una o varias CDR. Típicamente, un epítipo tiene unas características estructurales tridimensionales específicas. Típicamente, un epítipo tiene características de carga específicas. Algunos epítopos son epítopos lineales, mientras que otros son epítopos conformacionales.

En una realización, un determinante epitópico es una fracción en el antígeno, por ejemplo, tal como la cadena lateral de aminoácido o la cadena lateral de azúcar, o parte de la misma, que, cuando la molécula del antígeno y la del anticuerpo se cristalizan conjuntamente, está dentro de una distancia predeterminada, por ejemplo, dentro de 5 Angstroms, de una fracción en la molécula de anticuerpo, denominada en el presente documento como un "determinante epitópico cristalográfico". Los determinantes epitópicos cristalográficos de un epítipo se denominan colectivamente como el "epítipo cristalográfico".

Una primera molécula de anticuerpo se une al mismo epítipo que una segunda molécula de anticuerpo (por ejemplo, una molécula de anticuerpo de referencia, por ejemplo, una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, por ejemplo, ABTIM3-hum21, ABTIM-hum11 o ABTIM3-hum03) si el primer anticuerpo interactúa específicamente con los mismos determinantes epitópicos en el antígeno como lo hace el segundo anticuerpo o el de referencia, por ejemplo, cuando la interacción se mide de la misma manera tanto para el anticuerpo como para el segundo anticuerpo de referencia. Los epítopos que se superponen comparten al menos un determinante epitópico. Una primera molécula de anticuerpo se une a un epítipo que se superpone con una segunda molécula de anticuerpo (por ejemplo, una molécula de anticuerpo de referencia, por ejemplo, una molécula de anticuerpo descrito en este documento, por ejemplo, ABTIM3-hum21, ABTIM-hum11 o ABTIM3-hum03) cuando ambas moléculas de anticuerpo interactúan específicamente con un determinante epitópico común. Una primera y una segunda molécula de anticuerpo (por ejemplo, una molécula de anticuerpo de referencia, por ejemplo, una molécula de anticuerpo descrita en este documento, por ejemplo, ABTIM3-hum21, ABTIM-hum11 o ABTIM3-hum03) se unen a epítopos que se superponen sustancialmente si al menos la mitad de los determinantes epitópicos del segundo anticuerpo o anticuerpo de referencia se encuentran como determinantes epitópicos en el epítipo del primer anticuerpo. Una primera y una segunda molécula de anticuerpo (por ejemplo, una molécula de anticuerpo de referencia, por ejemplo, una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, por ejemplo, ABTIM3-hum21, ABTIM-hum11 o ABTIM3-hum03) se unen sustancialmente al mismo epítipo si la primera molécula de anticuerpo se une al menos a la mitad de los determinantes epitópicos centrales del epítipo del segundo anticuerpo o del anticuerpo de referencia, en donde los determinantes epitópicos centrales se definen por cristalografía e intercambio de hidrógeno-deuterio, por ejemplo, incluidos los residuos Val24, Glu25, Thr41, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127, Val128, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60 y Phe61 de TIM-3 humana.

Los términos "anticuerpo monoclonal" o "composición de anticuerpo monoclonal", como se usan en este documento, se refieren a una preparación de moléculas de anticuerpo de composición molecular única. Una composición de anticuerpo monoclonal muestra una única especificidad de unión y afinidad por un epítipo particular. Se puede producir un anticuerpo monoclonal mediante tecnología de hibridoma o mediante métodos que no usan tecnología de hibridoma (por ejemplo, métodos recombinantes).

Una proteína "efectivamente humana" es una proteína que no provoca una respuesta de anticuerpo neutralizante, por ejemplo, la respuesta del anticuerpo humano anti-murino (HAMA). HAMA puede ser problemático en varias circunstancias, por ejemplo, si la molécula de anticuerpo se administra repetidamente, por ejemplo, en el tratamiento de una enfermedad crónica o recurrente. Una respuesta de HAMA puede hacer que la administración repetida de anticuerpos sea potencialmente ineficaz debido a una mayor eliminación del anticuerpo del suero (véase, por ejemplo, Saleh et al., Cancer Immunol. Immunother., 32: 180-190 (1990)) y también debido a reacciones potencialmente alérgicas (véase, por ejemplo, LoBuglio et al., Hybridoma, 5: 5117-5123 (1986)).

La molécula de anticuerpo puede ser un anticuerpo policlonal o monoclonal. En otras realizaciones, el anticuerpo puede producirse de forma recombinante, por ejemplo, producirse mediante cualquier presentación en fagos o métodos combinatorios adecuados.

En la técnica se conocen diversos métodos de presentación en fagos y combinatorios para generar anticuerpos (como se describe, por ejemplo, en Ladner et al., Patente de Estados Unidos No. 5,223,409; Kang et al., publicación Internacional No. WO 92/18619; Dower et al., publicación internacional No. WO 91/17271; Winter et al., publicación internacional WO 92/20791; Markland et al., publicación internacional No. WO 92/15679; Breitling et al., Internacional publicación No. WO 93/01288; McCafferty et al., publicación internacional No. WO 92/01047; Garrard et al., publicación internacional No. WO 92/09690; Ladner et al., publicación Internacional No. WO 90/02809; Fuchs et al., (1991) Bio/Technology 9: 1370-1372; Hay et al. (1992) Hum Antibody Hybridomas 3: 81-85; Huse et al., (1989) Science 246: 1275-1281; Griffiths et al., (1993) EMBO J 12: 725-734; Hawkins et al., (1992) J Mol Biol 226: 889-896; Clackson et al., (1991) Nature 352: 624-628; Gram et al., (1992) PNAS 89: 3576-3580; Garrad et al., (1991) Bio/Technology 9: 1373-1377; Hoogenboom et al., (1991) Nuc Acid Res 19: 4133-4137; y Barbas et al., (1991) PNAS 88: 7978-7982).

En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo completamente humano (por ejemplo, un anticuerpo fabricado en un ratón que ha sido modificado para producir un anticuerpo de una secuencia de inmunoglobulina humana), o un anticuerpo no humano, por ejemplo, un anticuerpo de roedor (ratón o rata), cabra, primate (por ejemplo, mono), camello. En ciertas realizaciones, el anticuerpo no humano es un anticuerpo de roedor (ratón o rata). Los métodos para producir anticuerpos contra roedores son conocidos en la técnica.

Los anticuerpos monoclonales humanos pueden generarse usando ratones transgénicos que portan los genes de inmunoglobulina humana en lugar del sistema de ratón. Los esplenocitos de estos ratones transgénicos inmunizados con el antígeno de interés se usan para producir hibridomas que secretan mAb humano con afinidades específicas para epítomos de una proteína humana (véase, por ejemplo, Wood et al., solicitud internacional WO 91/00906, Kucherlapati et al., publicación PCT. WO 91/10741; Lonberg et al. solicitud internacional WO 92/03918; Kay et al., solicitud internacional 92/03917; Lonberg, N. et al., 1994 Nature 368: 856-859; Green, LL et al., 1994 Nature Genet. 7: 13-21; Morrison, SL et al., 1994 Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 81: 6851-6855; Bruggeman et al., 1993 Year Immunol 7: 33-40; Tuailon et al., 1993 PNAS 90: 3720-3724; Bruggeman et al., 1991 Eur J Immunol 21: 1323-1326).

Un anticuerpo puede ser uno en el que la región variable, o una porción de la misma, por ejemplo, las CDR, se generan en un organismo no humano, por ejemplo, una rata o un ratón. También se contemplan anticuerpos quiméricos, injertados con CDR y humanizados. También se contemplan los anticuerpos generados en un organismo no humano, por ejemplo, una rata o un ratón, y luego se modifican, por ejemplo, en el marco variable o la región constante, para disminuir la antigenicidad en un ser humano.

Los anticuerpos quiméricos pueden producirse mediante cualquier técnica de ADN recombinante adecuada. Varios son conocidos en la técnica (véase Robinson et al., publicación de Internacional de patente PCT/US86/02269; Akira, et al., solicitud de patente europea 184,187; Taniguchi, M., solicitud de patente europea 171,496; Morrison et al., solicitud de patente europea 173,494; Neuberger et al., solicitud internacional WO 86/01533; Cabilly et al., patente de Estados Unidos Nº 4,816,567; Cabilly et al., solicitud de patente europea 125,023; Better et al., (1988 Science 240: 1041-1043); Liu et al., (1987) PNAS 84: 3439-3443; Liu et al., 1987, J. Immunol. 139: 3521-3526; Sun et al., (1987) PNAS 84: 214-218; Nishimura et al., 1987, Res. 47: 999-1005, Wood et al., (1985) Nature 314: 446-449; y Shaw et al., 1988, J. Natl Cancer Inst. 80: 1553-1559).

Un anticuerpo humanizado o injertados con CDR tendrá al menos uno o dos, pero en general las tres CDR del receptor (de cadenas de inmunoglobulina pesada y/o ligera) reemplazadas con una CDR donante. El anticuerpo puede reemplazarse con al menos una porción de una CDR no humana o solo algunas de las CDR pueden reemplazarse con CDR no humanas. Solo es necesario reemplazar el número de CDR requeridas para la unión del anticuerpo humanizado a TIM-3. En algunas realizaciones, el donante será un anticuerpo de roedor, por ejemplo, un anticuerpo de rata o ratón, y el receptor será un marco humano o un marco de consenso humano. Típicamente, la inmunoglobulina que proporciona las CDR se denomina el "donante" y la inmunoglobulina que proporciona el marco se denomina el "aceptador". En algunas realizaciones, la inmunoglobulina donante es no humana (por ejemplo, de roedor). El marco aceptador es típicamente un marco de origen natural (por ejemplo, humano) o un marco de consenso, o una secuencia de aproximadamente 85% o más, por ejemplo, 90%, 95%, 99% o más, idéntica a la misma.

Como se usa en este documento, el término "secuencia de consenso" se refiere a la secuencia formada a partir de los aminoácidos (o nucleótidos) más frecuentes en una familia de secuencias relacionadas (véase, por ejemplo, Winnaker, From Genes to Clones (Verlagsgesellschaft, Weinheim, Alemania, 1987). En una familia de proteínas, cada posición en la secuencia de consenso está ocupada por el aminoácido que aparece con mayor frecuencia en esa posición en la familia. Si dos aminoácidos aparecen con la misma frecuencia, cualquiera de los dos puede incluirse en la secuencia de consenso. Un "marco de consenso" se refiere a la región marco en la secuencia de inmunoglobulina de consenso.

Un anticuerpo puede humanizarse por cualquier método adecuado, y varios de estos métodos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Morrison, SL, 1985, Science 229: 1202-1207, por Oi et al., 1986, BioTechniques 4: 214, y por Queen et al., patentes de Estados Unidos Nos. 5,585,089, 5,693,761 y 5,693,762).

Los anticuerpos humanizados o injertados con CDR pueden producirse mediante injerto de CDR o sustitución de CDR, en el que pueden reemplazarse una, dos o todas las CDR de una cadena de inmunoglobulina. Véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos No. 5,225,539; Jones et al., 1986 Nature 321: 552-525; Verhoeyan et al., 1988 Science 239: 1534; Beidler et al., 1988 J. Immunol. 141: 4053-4060; Winter, patente de Estados Unidos No. 5,225,539. Winter describe un método para injertar CDR que puede usarse para preparar anticuerpos humanizados (solicitud de patente del Reino Unido GB 2188638A, presentada el 26 de marzo de 1987; Winter patente de Estados Unidos No. 5,225,539).

También se proporcionan anticuerpos humanizados en los que se han sustituido, eliminado o añadido aminoácidos específicos. Los criterios para seleccionar los aminoácidos del donante se describen, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,585,089, por ejemplo, columnas 12-16 de la patente de Estados Unidos No. 5,585,089. Otras técnicas para humanizar anticuerpos se describen en Padlan et al., documento EP 519596 A1, publicado el 23 de diciembre de 1992.

La molécula de anticuerpo puede ser un anticuerpo de cadena sencilla. Un anticuerpo de cadena sencilla (scFV) puede modificarse (véase, por ejemplo, Colcher, D. et al., (1999) Ann NY Acad Sci 880: 263-80; y Reiter, Y. (1996) Clin Cancer Res 2: 245-52). El anticuerpo de cadena sencilla puede ser dimerizado o multimerizado para generar anticuerpos multivalentes que tienen especificidades por diferentes epítopos de la misma proteína objetivo.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo tiene una región constante de la cadena pesada seleccionada, por ejemplo, las regiones constantes de la cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE; particularmente, elegidas de, por ejemplo, las regiones constantes de la cadena pesada (por ejemplo, humana) de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En otra realización, la molécula de anticuerpo tiene una región constante de la cadena ligera seleccionada de, por ejemplo, las regiones constantes de la cadena ligera (por ejemplo, humana) de kappa o lambda. La región constante se puede alterar, por ejemplo, mutar, para modificar las propiedades del anticuerpo (por ejemplo, para aumentar o disminuir uno o más de: la unión al receptor de Fc, glicosilación del anticuerpo, el número de residuos de cisteína, la función de células efectoras y/o la función del complemento). En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene una función efectora y puede fijar el complemento. En otras realizaciones, el anticuerpo no recluta células efectoras o fija el complemento. En ciertas realizaciones, el anticuerpo tiene capacidad reducida o nula para unirse a un receptor de Fc. Por ejemplo, puede ser un isotipo o subtipo, fragmento u otro mutante, que no admite la unión a un receptor de Fc, por ejemplo, tiene una región de unión del receptor de Fc mutagenizada o eliminada.

La región constante del anticuerpo se altera en algunas realizaciones. Los métodos para alterar una región constante de anticuerpo son conocidos en la técnica. Los anticuerpos con función alterada, por ejemplo la afinidad alterada por un ligando efector, tal como FcR en una célula, o el componente C1 del complemento puede producirse reemplazando al menos un residuo de aminoácido en la porción constante del anticuerpo con un residuo diferente (véase el documento EP 388,151). A1, las patentes de Estados Unidos Nos. 5,624,821 y 5,648,260). También se contemplan las mutaciones de aminoácidos que estabilizan la estructura del anticuerpo, tales como S228P (nomenclatura EU, S241P en la nomenclatura de Kabat) en IgG4 humana. Se podrían describir tipos de alteraciones similares que, si se aplican a la inmunoglobulina murina u otra especie, reducirían o eliminarían estas funciones.

En algunas realizaciones, los únicos aminoácidos en la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 son aminoácidos canónicos. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende aminoácidos de origen natural; análogos, derivados y congéneres de los mismos; análogos de aminoácidos que tienen variantes de cadenas laterales; y/o todos los estereoisómeros de cualquiera de los anteriores. La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede comprender los isómeros ópticos D o L de aminoácidos y peptidomiméticos.

Un polipéptido de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados y puede estar interrumpido por no aminoácidos. La molécula de anticuerpo también puede ser modificada; por ejemplo, mediante la formación de enlaces disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación, como la conjugación con un componente de etiquetado. El polipéptido puede aislarse de fuentes naturales, puede producirse mediante técnicas recombinantes de un huésped eucariota o procariota, o puede ser un producto de procedimientos sintéticos.

Una molécula de anticuerpo puede formar derivados o unirse a otra molécula funcional (por ejemplo, otro péptido o proteína). Como se usa en este documento, una molécula de anticuerpo "que forma derivados" es una que se ha modificado. Los métodos de formación de derivados incluyen, pero no se limitan a, la adición de un resto fluorescente, un radionucleótido, una toxina, una enzima o un ligando de afinidad, tal como biotina. Por consiguiente, se pretende que las moléculas de anticuerpo incluyan formas derivadas o bien, modificadas de los anticuerpos descritos en el presente documento, incluyendo moléculas de inmunoadhesión. Por ejemplo, una molécula de anticuerpo puede estar unida funcionalmente (por acoplamiento químico, fusión genética, asociación no covalente o de otra manera) a una o más entidades moleculares, tal como otro anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico o un diacuerpo), un agente detectable, un agente citotóxico, un agente farmacéutico y/o una proteína o péptido que puede mediar la asociación del anticuerpo o la porción del anticuerpo con otra molécula (tal como una región central de estreptavidina o una etiqueta de polihistidina).

Algunos tipos de moléculas de anticuerpo que forma derivados se producen mediante el entrecruzamiento de dos o más anticuerpos (del mismo tipo o de tipos diferentes, por ejemplo, para crear anticuerpos biespecíficos). Los

entrecruzadores adecuados incluyen aquellos que son heterobifuncionales, que tienen dos grupos claramente reactivos separados por un espaciador apropiado (por ejemplo, éster de m-maleimidobenzoi-N-hidroxisuccinimida) u homobifuncionales (por ejemplo, suberato de disuccinimidilo). tales enlazadores están disponibles en Pierce Chemical Company, Rockford, Ill.

Los agentes útiles detectables con los una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede formar derivados (o marcarse) para incluir compuestos fluorescentes, diversas enzimas, grupos protésicos, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, átomos de metales emisores de fluorescencia, por ejemplo, europio (Eu), y otros lantánidos, y materiales radiactivos (se describen a continuación). Los ejemplos de agentes detectables fluorescentes incluyen fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, cloruro de 5-dimetilamina-1-naftalensulfonilo, ficoeritrina y similares. Un anticuerpo también formar derivados con enzimas detectables, tales como fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, acetilcolinesterasa, glucosa oxidasa y similares. Cuando un anticuerpo se deriva de una enzima detectable, se detecta agregando reactivos adicionales que la enzima usa para producir un producto de reacción detectable. Por ejemplo, cuando está presente el agente detectable peroxidasa de rábano picante, la adición de peróxido de hidrógeno y diaminobenzidina conduce a un producto de reacción coloreado, que es detectable. Una molécula de anticuerpo también puede formar derivados con un grupo prostético (por ejemplo, estreptavidina/biotina y avidina/biotina). Por ejemplo, un anticuerpo puede formar derivados con biotina y detectarse a través de la medición indirecta de la unión de avidina o estreptavidina. Los ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, fluoresceína diclorotriazinilamina, cloruro de dansilo o ficoeritrina; un ejemplo de un material luminiscente incluye luminol; y los ejemplos de materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y aequorina.

La molécula de anticuerpo marcada se puede usar, por ejemplo, para diagnóstico y/o experimentalmente en varios contextos, incluyendo (i) para aislar un antígeno predeterminado mediante técnicas estándar, tales como cromatografía de afinidad o inmunoprecipitación; (ii) para detectar un antígeno predeterminado (por ejemplo, en un lisado celular o sobrenadante celular) para evaluar la abundancia y el patrón de expresión de la proteína; (iii) para monitorizar los niveles de proteínas en el tejido como parte de un procedimiento de prueba clínica, por ejemplo, para determinar la eficacia de un régimen de tratamiento dado.

Una molécula de anticuerpo puede conjugarse con otra entidad molecular, típicamente un marcador o un agente o fracción terapéutica (por ejemplo, inmunomodulador, inmunoestimulador, citotóxico o citostático). Los isótopos radiactivos pueden usarse en aplicaciones diagnósticas o terapéuticas. Los isótopos radiactivos que pueden acoplarse a los anticuerpos anti-TIM-3 incluyen, pero no se limita a, emisores α , β o γ , o emisores β y γ . Dichos isótopos radiactivos incluyen, pero no se limitan a, yodo (^{131}I o ^{125}I), itrio (^{90}Y), lutecio (^{177}Lu), actinio (^{225}Ac), praseodimio astatino (^{211}At), renio (^{186}Re), bismuto (^{212}Bi o ^{213}Bi), indio (^{111}In), tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), fósforo (^{32}P), rodio (^{188}Rh), azufre (^{35}S), carbono (^{14}C), tritio (^3H), cromo (^{51}Cr), cloro (^{36}Cl), cobalto (^{57}Co o ^{58}Co), hierro (^{59}Fe), selenio (^{75}Se), o galio (^{67}Ga). Los radioisótopos útiles como agentes terapéuticos incluyen itrio (^{90}Y), lutecio (^{177}Lu), actinio (^{225}Ac), praseodimio, astatino (^{211}At), renio (^{186}Re), bismuto (^{212}Bi o ^{213}Bi), y rodio (^{188}Rh). Los radioisótopos útiles como etiquetas, por ejemplo, para uso en diagnóstico, incluyen yodo (^{131}I o ^{125}I), indio (^{111}In), tecnecio ($^{99\text{m}}\text{Tc}$), fósforo (^{32}P), carbono (^{14}C) y tritio (^3H), o uno o más de los isótopos terapéuticos mencionados anteriormente.

La presente descripción proporciona moléculas de anticuerpos radiomarcados y métodos para marcarlos. En algunas realizaciones, se describe un método para marcar una molécula de anticuerpo. El método incluye poner en contacto una molécula de anticuerpo, con un agente quelante, para producir así un anticuerpo conjugado. El anticuerpo conjugado está radiomarcado con un radioisótopo, por ejemplo, $^{111}\text{indio}$, $^{90}\text{itrio}$ y $^{177}\text{lutecio}$, para producir así una molécula de anticuerpo marcada.

Como se ha explicado anteriormente, la molécula de anticuerpo puede conjugarse con un agente terapéutico. Los radioisótopos terapéuticamente activos ya se han mencionado. Los ejemplos de otros agentes terapéuticos incluyen taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxi antracindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol, puromicina, maitansinoides, por ejemplo, maitansinol (véase la patente de Estados Unidos No. 5,208,020), CC-1065 (véanse las patentes de Estados Unidos Nos. 5,475,092, 5,585,499, 5,846,545) y análogos u homólogos de los mismos. Los agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a, antimetabolitos (por ejemplo, Metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil decarbazina), agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, clorambucilo tiotepa, CC-1065, melfalan, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptoizotocina, mitomicina C, y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino), antraciclinas (por ejemplo, daunorrubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina, y antramicina (AMC)), y agentes antimetabólicos (por ejemplo, vincristina, vinblastina, taxol y maitansinoides).

En algunos aspectos, esta descripción proporciona un método para proporcionar una molécula de unión al objetivo que se une específicamente a un receptor TIM-3. Por ejemplo, la molécula de unión al objetivo es una molécula de anticuerpo. El método incluye: proporcionar una proteína objetivo que comprende al menos una porción de una proteína no humana, siendo la porción homóloga a (al menos 70, 75, 80, 85, 87, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98, o 99% idéntica a) una porción correspondiente de una proteína objetivo humana, pero que difiere en al menos un aminoácido

(por ejemplo, al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve aminoácidos); obtener una molécula de anticuerpo que se une específicamente al antígeno; y evaluar la eficacia del agente de unión en la modulación de la actividad de la proteína objetivo. El método puede incluir además administrar el agente de unión (por ejemplo, molécula de anticuerpo) o un derivado (por ejemplo, una molécula de anticuerpo humanizada) a un sujeto humano.

5 En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo multiespecífica (por ejemplo, biespecífica o triespecífica). Los protocolos para generar moléculas de anticuerpos biespecíficos o heterodiméricos son conocidos en la técnica; incluyendo pero sin limitarse a, por ejemplo, el enfoque de "botón en un orificio" descrito, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,731,168; el emparejamiento de Fc en la dirección electrostática como se describe, por ejemplo, en los documentos WO 09/089004, WO 06/106905 y WO 2010/129304; formación de heterodímeros de dominios modificados por intercambio de cadena (SEED) como se describe, por ejemplo, en el documento WO 07/110205; el intercambio de brazo de Fab como se describe, por ejemplo, en los documentos WO 08/119353, WO 2011/131746 y WO 2013/060867; el conjugado de doble anticuerpo, por ejemplo, mediante el entrecruzamiento de anticuerpos para generar una estructura biespecífica utilizando un reactivo heterobifuncional que tiene un grupo reactivo con amina y un grupo reactivo con sulfhidrilo como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 4,433,059; los determinantes de anticuerpos biespecíficos generados por recombinación de mitades de anticuerpos (pares de cadena pesada-ligera o Fab) de diferentes anticuerpos a través del ciclo de reducción y oxidación de enlaces disulfuro entre las dos cadenas pesadas, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 4,444,878; anticuerpos trifuncionales, por ejemplo, tres fragmentos Fab' entrecruzados a través de grupos reactivos sulfhidrilo, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,273,743; proteínas de unión biosintética, por ejemplo, pares de scFv entrecruzados a través de las colas del extremo terminal C preferiblemente a través del entrecruzamiento químico reactivo con disulfuro o amina, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,534,254; anticuerpos bifuncionales, por ejemplo, fragmentos Fab con diferentes especificidades de unión dimerizados a través de cremalleras de leucina (por ejemplo, c-fos y c-jun) que han reemplazado el dominio constante, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,582,996; receptores monovalentes y oligovalentes biespecíficos y oligoespecíficos, por ejemplo, regiones VH-CH1 de dos anticuerpos (dos fragmentos Fab) unidos a través de un espaciador polipeptídico entre la región CH1 de un anticuerpo y la región VH del otro anticuerpo típicamente con cadenas ligeras asociadas, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,591,828; conjugados biespecíficos ADN-anticuerpo, por ejemplo, entrecruzamiento de anticuerpos o fragmentos Fab a través de una pieza de ADN de doble cadena, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,635,602; proteínas de fusión biespecíficas, por ejemplo, un constructo de expresión que contiene dos scFv con un enlazador peptídico helicoidal hidrófilo entre ellos y una región constante completa, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,637,481; proteínas de unión multivalentes y multiespecíficas, por ejemplo, dímero de polipéptidos que tienen un primer dominio con región de unión de la región variable de la cadena pesada de Ig, y un segundo dominio con región de unión de la región variable de la cadena ligera de Ig, generalmente denominados diacuerpos (estructuras de orden superior también se incluyen en la creación de moléculas biespecíficas, triespecíficas o tetraespecíficas, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,837,242; los constructos de minicuerpos con cadenas VL y VH enlazadas además conectadas con espaciadores peptídicos a una región bisagra del anticuerpo y región CH3, que pueden dimerizarse para formar moléculas biespecíficas/multivalentes, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,837,821; los dominios VH y VL enlazados con un enlazador peptídico corto (por ejemplo, 5 o 10 aminoácidos) o sin enlazador en ninguna orientación, que puede formar dímeros para formar diacuerpos biespecíficos, trímeros y tetrameros, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,844,094; cadena de dominios VH (o dominios VL en miembros de la familia) conectados por enlaces peptídicos con grupos entrecruzables en el extremo terminal C asociado además con dominios VL para formar una serie de Fv (o scFv), como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,864,019; y los polipéptidos de unión de cadena sencilla con un dominio VH y un dominio VL unidos a través de un enlazador peptídico se combinan en estructuras multivalentes a través de entrecruzamiento no covalente o químico para formar, por ejemplo, estructuras homobivalentes, heterobivalentes, trivalentes y tetravalentes utilizando tanto scFv como un formato de tipo diacuerpo, como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5,869,620. Los ejemplos adicionales de moléculas multiespecíficas y biespecíficas y los métodos para su elaboración se encuentran, por ejemplo, en los documentos US 5910573, US 5932448, US 5959083, US 5989830, US 6005079, US 6239259, US 6294353, US 6333396, US 6476198, US 6511663, US 6670453, US 6743896, US 6809185, US 6833441, US 7129330, US 7183076, US 7521056, US 7527787, US 7534866, US 7612181, US 2002004587A1, US 2002076406A1, US 2002103345A1, US 2003207346A1, US 2003211078A1, US 2004219643A1, US 2004220388A1, US 2004242847A1, US 2005003403A1, US 2005004352A1, US 2005069552A1, US 2005079170A1, US 2005100543A1, US 2005136049A1, US 2005136051A1, US 2005163782A1, US 2005266425A1, US 2006083747A1, US 2006120960A1, US 2006204493A1, US 2006263367A1, US 2007004909A1, US 2007087381A1, US 2007128150A1, US 2007141049A1, US 2007154901A1, US 2007274985A1, US 2008050370A1, US 2008069820A1, US 2008152645A1, US 2008171855A1, US 2008241884A1, US 2008254512A1, US 2008260738A1, US 2009130106A1, US 2009148905A1, US 2009155275A1, US 2009162359A1, US 2009162360A1, US 2009175851A1, US 2009175867A1, US 2009232811A1, US 2009234105A1, US 2009263392A1, US 2009274649A1, EP346087A2, WO 0006605A2, WO 02072635A2, WO 04081051A1, WO 06020258A2, WO 2007044887A2, WO 2007095338A2, WO 2007137760A2, WO 2008119353A1, WO 2009021754A2, WO 2009068630A1, WO 9103493A1, WO 9323537A1, WO 9409131A1, WO 9412625A2, WO 9509917A1, WO 9637621A2, WO 9964460A1.

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo monoespecífica, biespecífica o multiespecífica) está unida covalentemente, por ejemplo, fusionada, a otro compañero, por ejemplo, una proteína, una, dos o más citoquinas, por ejemplo, como una molécula de fusión, por ejemplo, una proteína de fusión. En otras realizaciones, la molécula de fusión comprende una o más proteínas, por ejemplo, una, dos o más citoquinas.

En una realización, la citoquina es una interleuquina (IL) elegida entre una, dos, tres o más de IL-1, IL-2, IL-12, IL-15 o IL-21. En una realización, una molécula de anticuerpo biespecífica tiene una primera especificidad de unión a un primer objetivo (por ejemplo, a TIM-3), una segunda especificidad de unión a un segundo objetivo (por ejemplo, LAG-3 o PD-1), y está opcionalmente enlazada a un dominio de interleuquina (por ejemplo, IL-12) por ejemplo, IL-12 de longitud completa o una porción de la misma. En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se fusiona a otra proteína, por ejemplo, una, dos o más citoquinas, por ejemplo, como una molécula de fusión. En otras realizaciones, la molécula de fusión comprende una o más proteínas, por ejemplo, una, dos o más citoquinas. En una realización, la citoquina es una interleuquina (IL) elegida entre una, dos, tres o más de IL-1, IL-2, IL-12, IL-15 o IL-21.

Una "proteína de fusión" y un "polipéptido de fusión" se refieren a un polipéptido que tiene al menos dos porciones covalentemente unidas entre sí, en donde cada una de las porciones es un polipéptido que tiene una propiedad diferente. La propiedad puede ser una propiedad biológica, como la actividad *in vitro* o *in vivo*. La propiedad también puede ser una propiedad química o física simple, tal como la unión a una molécula objetivo, la catálisis de una reacción, etc. Las dos porciones se pueden enlazar directamente mediante un enlace peptídico sencillo o a través de un enlazador peptídico, pero están en el marco de lectura entre sí.

Ejemplos de moléculas de anticuerpo anti-TIM-3

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-TIM-3 comprende:

(a) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 10; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14;

(b) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8;

(c) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 25; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14;

(d) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 24; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8;

(e) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 31; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14; o

(f) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 30; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 10; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 25; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 24; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 31; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 30; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende:

(i) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4 o la SEQ ID NO: 10; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y

(ii) una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 13, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8 o la SEQ ID NO: 14.

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende:

(i) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 24 o la SEQ ID NO: 25; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y

(ii) una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 13, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8 o la SEQ ID NO: 14.

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende:

(i) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3 o la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 30 o la SEQ ID NO: 31; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y

(ii) una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 13, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8 o la SEQ ID NO: 14.

En las realizaciones de las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente, la VHCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3. En otras realizaciones, la VHCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

En las realizaciones de las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente, la VHCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En otras realizaciones, la VHCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10. En otras realizaciones, la VHCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24. En otras realizaciones, la VHCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25. En otras realizaciones, la VHCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30. En otras realizaciones, la VHCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31.

En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOS: 1, 16, 26, 32, 36, 44, 48, 52, 60, 68, 72, 76, 80, 84, 92 o 100.

- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 1, 16, 26, 32, 36, 44, 48, 52, 60, 68, 72, 76, 80, 84, 92 o 100.
- 5 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 2, 20, 40, 56, 64, 88, 96 o 104.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 2, 20, 40, 56, 64, 88, 96 o 104.
- 10 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18.
- 15 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28.
- 20 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36.
- 25 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44.
- 30 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50.
- 35 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54.
- 40 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 68.
- 45 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70.
- En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden un dominio variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente se eligen entre un Fab, F(ab')₂, Fv o un fragmento Fv de cadena sencilla (scFv).

En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una región constante de la cadena pesada seleccionada de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

- 5 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente comprenden una región constante de la cadena ligera elegida entre las regiones constantes de cadena ligera de kappa o lambda.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la CDR2 de la región VH de la SEQ ID NO: 1, utilizando las definiciones de Kabat o Chothia de CDR2. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la CDR2 y una o ambas de CDR1 y CDR3 de la región VH de la SEQ ID NO: 1, utilizando las definiciones de Kabat o Chothia de LA CDR. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende CDR2 de la región VH de la SEQ ID NO: 1 en combinación con otras CDR 1, 2, 3, 4 o 5 (por ejemplo, todas colectivamente) encontradas en la SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2, usando las definiciones de CDR de Kabat o Chothia. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede comprender la VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4 en combinación con una o ambos de la VHCDR1 de la SEQ ID NO: 3 y la VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5. Como ejemplo adicional, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede comprender la VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4 en combinación con otras CDR 1, 2, 3, 4 o 5 (por ejemplo, colectivamente todas) seleccionadas de las SEQ ID NOs: 3, 5, 6, 7 y 8.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la CDR3 de la región VL de la SEQ ID NO: 2, utilizando las definiciones de las CDR de Kabat o Chothia. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la CDR3 y una o ambas de CDR1 y CDR2 de la región VL de la SEQ ID NO: 2, utilizando las definiciones de CDR de Kabat o Chothia. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la CDR3 de la región VL de la SEQ ID NO: 2 en combinación con otras CDR 1, 2, 3, 4 o 5 (por ejemplo, todas colectivamente) encontradas en la SEQ ID NO: 1 o la SEQ ID NO: 2, utilizando las definiciones de CDR de Kabat o Chothia. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede comprender la VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8 en combinación con una o ambas de la VHCDR1 de la SEQ ID NO: 6 y la VHCDR2 de la SEQ ID NO: 7. Como un ejemplo adicional, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede comprender la VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8 en combinación con otras CDR 1, 2, 3, 4 o 5 (por ejemplo, todas colectivamente) seleccionadas de las SEQ ID NOs: 3-7.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la CDR2 de la región VH de la SEQ ID NO: 1 y la CDR3 de la región VL de la SEQ ID NO: 2, opcionalmente en combinación con las CDR adicionales 1, 2, 3 o 4 (por ejemplo, colectivamente todas) encontradas en la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 2, utilizando las definiciones de la CDR de Kabat o Chothia. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4 y la VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8, opcionalmente en combinación con las CDR adicionales 1, 2, 3 o 4 (por ejemplo, todos colectivamente) seleccionadas de las SEQ ID NOs: 3, 5, 6 o 7.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende una región constante de la cadena pesada, una región constante de la cadena ligera y regiones variables de la cadena pesada y ligera de las Tablas 1-4 (por ejemplo, la SEQ ID NO: 1 y la SEQ ID NO: 2). En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende una región constante de la cadena pesada, una región constante de la cadena ligera y las CDR 1, 2, 3, 4, 5 o 6 (por ejemplo, todas) de las Tablas 1-4.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende la secuencia de toda o una parte de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende los aminoácidos 1-98, 1-107 o 1-118 de la SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende los aminoácidos 1-98 de la SEQ ID NO: 1, y una región hCDR3 (por ejemplo, la SEQ ID NO: 5 o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma), y una región VHFW4 (por ejemplo, una región VHFW4 humana, una región homóloga de las secuencias D o J humanas, los aminoácidos 108-118 de la SEQ ID NO: 1, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma). En algunas realizaciones, la región VHFW4 no tiene más de 1 o 2 posiciones de no identidad en relación con los aminoácidos 108-118 de la SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la región VHFW4 no tiene más de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 posiciones de no identidad en relación con los aminoácidos 108-118 de la SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la región hCDR3 no tiene más de 1 o 2 posiciones de no identidad en relación con la SEQ ID NO: 5.

En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente son capaces de unirse a TIM-3 humana con una constante de disociación (K_D) de menos de 0.5 nM.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 es capaz de unirse independientemente a TIM-3 humana y TIM-3 de mono cynomolgus con alta afinidad. En algunas realizaciones, la alta afinidad se refiere a un K_D de menos de 5, 2, 1, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 o 0.1 nM, por ejemplo, aproximadamente 0.3 a 0.01 nM, por ejemplo, aproximadamente 0.2 a 0.05 nM, por ejemplo, como se mide por un método de Biacore.

En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente se unen a TIM-3 de cynomolgus con una K_D de menos de 10, 5, 4, 3, 2 o 1 nM, por ejemplo, según lo medido por un método de Biacore, análisis FACS o ELISA.

5 En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente se unen a TIM-3 humana con una K_D de menos de 5, 2, 1, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 o 0.1 nM, por ejemplo, según lo medido por un método de Biacore, Análisis FACS, o ELISA.

En las realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente no se unen al TIM-3 de ratón.

10 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo se une a TIM-3 de mamífero, por ejemplo, humana. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo se une específicamente a un epítipo, por ejemplo, epítipo lineal o conformacional (por ejemplo, un epítipo como se describe en el presente documento) en TIM-3. En algunas realizaciones, el epítipo es al menos una porción del dominio IgV de TIM-3 humana o de cynomolgus. En ciertos aspectos, es ventajoso identificar un anticuerpo que se una con alta afinidad a homólogos de una proteína de interés humana y de cynomolgus. Esta reactividad cruzada deseable permite que el mismo anticuerpo (o dos anticuerpos con las mismas CDR o regiones variables) se analice en un modelo animal y luego se administre a pacientes humanos como un compuesto terapéutico.

15 En ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente no tienen reactividad cruzada con TIM-3 de ratón. En ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente tienen menos reactividad cruzada con TIM-3 de rata. Por ejemplo, la reactividad cruzada se puede medir mediante un método de Biacore o un ensayo de unión utilizando células que expresan TIM-3 (por ejemplo, células 300.19 que expresan TIM-3 humana). En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente se unen a un dominio extracelular tipo Ig (por ejemplo, el dominio IgV) de TIM-3.

25 En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 mencionadas anteriormente se unen a uno o más residuos dentro de: los dos residuos adyacentes al extremo terminal N de la cadena A, el bucle BC, el bucle CC', la cadena F, el bucle FG y la cadena G de TIM-3, o uno o más (por ejemplo, dos, cinco, diez, quince, veinte, veinticinco, treinta, treinta y cinco, o todos) residuos dentro de dos o más de los dos residuos adyacentes al extremo terminal N de la cadena A, el bucle BC, el bucle CC', la cadena F, el bucle FG o la cadena G de TIM-3. La cadena F de TIM-3 comprende los residuos G106 a I112; la cadena G de TIM-3 comprende los residuos E121 a K130; el bucle FG de TIM-3 comprende los residuos entre la cadena F y la cadena G, por ejemplo, que comprende los residuos Q113 a D120; el bucle BC de TIM-3 comprende los residuos entre la cadena B y la cadena C, por ejemplo, que comprende los residuos P37 a P50; los dos residuos adyacentes al extremo terminal N de la cadena A comprenden los residuos V24 y E25; el bucle CC' comprende los residuos entre la hebra C y la hebra C', por ejemplo, que comprende los residuos G56 a N65. En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 mencionadas anteriormente se unen a uno o más residuos dentro de: la cadena A, el bucle EF, la cadena C, el bucle C'C", o la cadena C". La cadena A comprende los residuos Y26 a E29; el bucle EF comprende los residuos entre la cadena E y la cadena F, por ejemplo, que comprende los residuos E98 a S105; la cadena C comprende los residuos V51 a K55; el bucle C'C" comprende los residuos entre la hebra C' y la hebra C", por ejemplo, que comprende los residuos D71 a D74; y la cadena C" comprende los residuos V75 a W78. La numeración de los residuos de TIM-3 se describe, por ejemplo, en la Figura 18. En una realización, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 se unen a uno o más (por ejemplo, dos, cinco, diez, quince, veinte, veinticinco, treinta, treinta y cinco o todos) residuos en la cadena F, la cadena G y el bucle CC' de TIM-3.

40 En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 mencionadas anteriormente reducen o inhiben la penetración de la membrana plasmática o la penetración de la membrana dependiente de PtdSer de TIM-3. En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 mencionadas anteriormente reducen o inhiben la unión a TIM-3 del ligando PtdSer. En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 mencionadas anteriormente reducen o inhiben la unión a TIM-3 del ligando HMGB1. En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 mencionadas anteriormente reducen o inhiben la unión a TIM-3 del ligando CEACAM-1. En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 mencionadas anteriormente reducen o inhiben la unión a TIM-3 del ligando Semaphorin-4A. En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 mencionadas anteriormente no reducen ni inhiben la unión a TIM-3 del ligando Galectina-9.

50 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a, una superficie de TIM-3, por ejemplo, uno, dos, tres, cinco, ocho, diez, quince o más residuos de aminoácidos continuos o discontinuos (por ejemplo, no contiguos) elegidos entre Val24, Glu25, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126 y/o Leu127.

55 En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a, una superficie de TIM-3, por ejemplo, uno, dos, tres, cinco, ocho, diez, quince, veinte, veintiuno, veinticinco, o más residuos de aminoácidos continuos y discontinuos (por ejemplo, no contiguos) elegidos entre Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 y/o Val128, por ejemplo, como se detalla en la Tabla 13.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a una superficie de TIM-3, por ejemplo, uno, dos, tres, cinco, ocho, diez, quince, veinte, veintiuno, veinticinco, o más residuos de aminoácidos continuos o discontinuos (por ejemplo, no contiguos) elegidos de Glu23, Val24, Glu25, Tyr26, Thr41, Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49, Pro50, Val51, Cys52, Trp53, Gly54, Lys55, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126 y/o Leu127.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a una superficie de TIM-3, por ejemplo, uno, dos, tres, cinco, ocho, diez, quince, veinte, veintiuno, veinticinco, o más residuos de aminoácidos continuos o discontinuos (por ejemplo, no contiguos) elegidos entre Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49, Pro50, Val51, Cys52, Trp53, Gly54, Lys55, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 y/o Val128.

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 compete con CEACAM-1 por la unión a TIM-3. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa, por ejemplo, se une a uno, dos o más (todos) de C58, N119 y K122 de TIM-3, por ejemplo, desplaza o compete con CEACAM-1 por la unión a estos residuos. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 reduce o bloquea la formación de un enlace de hidrógeno entre K122 de TIM-3 y N42 de CEACAM-1. Con respecto a CEACAM-1, se ha demostrado que CEACAM-1 es un ligando para TIM-3 y se requiere por su capacidad para mediar la inhibición de las células T, que puede tener un papel importante en la regulación de la autoinmunidad y la inmunidad antitumoral (Huang, et al., (2014) Nature Doi: 10.1038/nature13848). La inhibición de una interacción entre TIM-3 y CEACAM-1 se puede usar con los otros inmunomoduladores descritos en este documento (por ejemplo, el inhibidor anti-PD-1) para mejorar una respuesta inmune contra un cáncer.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a, un bucle de unión a PtdSer de TIM-3, por ejemplo, el dominio IgV de TIM-3 humana. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 interactúa con, por ejemplo, se une a, al menos, dos bucles de unión a PtdSer de TIM-3, por ejemplo, el bucle FG y el bucle CC' de TIM-3 (por ejemplo, un sitio de unión al ligando dependiente del ión metálico (MILIBS)). Por ejemplo, el grupo carboxilo de PtdSer puede unirse al bucle CC' de TIM-3 y el grupo amino de PtdSer puede unirse al bucle FG de TIM-3. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 reduce o previene la penetración de la membrana mediada por PtdSer de TIM-3. Por lo tanto, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede reducir la unión de las células que expresan TIM-3 y/o la penetración en la membrana de células apoptóticas (que puede mostrar PtdSer) para ser engullido.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 compete con HMGB1 por la unión a TIM-3. Por ejemplo, reduce la unión de HMGB1 al residuo 62 de TIM-3 (Q, en TIM-3 de ratón, E en TIM-3 humana). Con respecto a HMGB1, se ha informado que interactúa con TIM-3 para ayudar a que las células dendríticas asociadas con el tumor supriman la respuesta inmune innata mediada por ácido nucleico (Chiba et al., (2012) Nat. Immunol. 13 (9): 832-842). Por lo tanto, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede mejorar la respuesta inmune innata mediada por ácido nucleico.

En aún otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 no compete con o reduce un ligando de Galectina-9 (Gal-9) para la unión a TIM-3.

En realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 es una molécula de anticuerpo monoespecífica o una molécula de anticuerpo biespecífica. En realizaciones, la molécula de anticuerpo tiene una primera especificidad de unión para TIM-3 y una segunda especificidad de unión por PD-1, LAG-3, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1 y/o CEACAM-5), PD-L1 o PD-L2. En realizaciones, la molécula de anticuerpo comprende un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, por ejemplo, una mitad del anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno de una mitad de anticuerpo.

En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente son capaces de mejorar una respuesta de células T específica de antígeno.

En este documento se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la molécula de anticuerpo anterior, los vectores y las células huésped de la misma. La molécula de ácido nucleico incluye, pero no se limita a, ARN, ADN genómico y ADNc.

En realizaciones, el ácido nucleico aislado codifica la región variable de la cadena pesada del anticuerpo o la región variable de la cadena ligera, o ambas, de cualquiera de las moléculas de anticuerpo mencionadas anteriormente.

En otras realizaciones, el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de la cadena pesada, en el que la secuencia de nucleótidos es al menos el 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOS: 11, 17, 29, 33, 37, 45, 49, 53, 61, 69, 73, 77, 81, 85, 93, 101, 115 o 120.

En otras realizaciones, el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de la cadena pesada, en donde la secuencia de nucleótidos comprende cualquiera de las SEQ ID NOS: 11, 17, 27, 33, 37, 45, 49, 53, 61, 69, 73, 77, 81, 85, 93, 101, 115 o 120.

En otras realizaciones, el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada, en la que la secuencia de nucleótidos es al menos el 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 19, 29, 35, 39, 47, 51, 55, 63, 71, 75, 79, 83, 87, 95, 103, 117 o 122.

- 5 En otras realizaciones, el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada, en donde la secuencia de nucleótidos comprende cualquiera de las SEQ ID NOs: 19, 29, 35, 39, 47, 51, 55, 63, 71, 75, 79, 83, 87, 95, 103, 117 o 122.

En otras realizaciones, el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de la cadena ligera, en donde la secuencia de nucleótidos es al menos el 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 15, 21, 41, 57, 65, 89, 97, 105, 118, 123, 125 o 127.

- 10 En otras realizaciones, el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de la cadena ligera, en donde la secuencia de nucleótidos comprende cualquiera de las SEQ ID NOs: 15, 21, 41, 57, 65, 89, 97, 105, 118, 123, 125, o 127.

- 15 En otras realizaciones, el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera, en donde la secuencia de nucleótidos es al menos el 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 23, 43, 59, 67, 91, 99, 107, 119, 124, 126 o 128.

En otras realizaciones, el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera, en donde la secuencia de nucleótidos comprende cualquiera de las SEQ ID NOs: 23, 43, 59, 67, 91, 99, 107, 119, 124, 126, o 128.

Composiciones farmacéuticas y Kits

- 20 En algunos aspectos, esta descripción proporciona composiciones, por ejemplo, composiciones farmacéuticamente aceptables, que incluyen una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en este documento, formulada junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, y similares que son fisiológicamente compatibles. El vehículo puede ser adecuado para administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, parenteral, rectal, espinal o epidérmica (por ejemplo, mediante inyección o infusión).

- 30 Las composiciones expuestas en el presente documento pueden estar en una variedad de formas. Estas incluyen, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas, tales como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables e infusibles), dispersiones o suspensiones, liposomas y supositorios. Una forma adecuada depende del modo de administración previsto y la aplicación terapéutica. Las composiciones adecuadas típicas están en forma de soluciones inyectables o infusibles. Un modo adecuado de administración es parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular). En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo se administra mediante infusión o inyección intravenosa. En ciertas realizaciones, el anticuerpo se administra mediante inyección intramuscular o subcutánea.

- 35 Las frases "administración parenteral" y "administrada parenteralmente" como se usan en el presente documento significan modos de administración distintos a la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal.

- 40 Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, dispersión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración de anticuerpos. Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto activo (es decir, el anticuerpo o la porción de anticuerpo) en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son el secado al vacío y la liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente esterilizada y filtrada del mismo. La fluidez adecuada de una solución puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de surfactantes. La absorción prolongada de composiciones inyectables se puede lograr incluyendo en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

- 55 Las moléculas de anticuerpo pueden administrarse por una variedad de métodos. Varios son conocidos en la técnica, y para muchas aplicaciones terapéuticas, una vía/modo apropiada de administración es la inyección o infusión intravenosa. En una realización, las moléculas de anticuerpo pueden administrarse por infusión intravenosa a una velocidad de más de 20 mg/min, por ejemplo, 20-40 mg/min, y preferiblemente mayor o igual a 40 mg/min para alcanzar

una dosis de aproximadamente 35 a 440 mg/m², preferiblemente aproximadamente 70 a 310 mg/m², y más preferiblemente, aproximadamente 110 a 130 mg/m². En una realización, las moléculas de anticuerpo pueden administrarse por infusión intravenosa a una velocidad de menos de 10 mg/min; preferiblemente menor o igual a 5 mg/min para alcanzar una dosis de aproximadamente 1 a 100 mg/m², preferiblemente de aproximadamente 5 a 50 mg/m², de 7 a 25 mg/m² y más preferiblemente, aproximadamente 10 mg/m². Como apreciarán los expertos en la materia, la vía y/o el modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados. En ciertas realizaciones, el compuesto activo puede prepararse con un vehículo que protegerá el compuesto contra la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes, parches transdérmicos y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de vinilileno, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos métodos para la preparación de tales formulaciones están patentados o son generalmente conocidos por los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, editor, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1978.

En ciertas realizaciones, una molécula de anticuerpo puede administrarse por vía oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o un vehículo comestible asimilable. La molécula de anticuerpo (y otros ingredientes, si se desea) también pueden incluirse en una cápsula de gelatina de cubierta dura o blanda, comprimirse en tabletas o incorporarse directamente a la dieta del sujeto. Para la administración terapéutica oral, la molécula de anticuerpo puede incorporarse con excipientes y usarse en forma de tabletas ingeribles, tabletas bucales, pastillas, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. Para administrar una molécula de anticuerpo por otro diferente a la administración parenteral, puede ser necesario recubrir el compuesto con o coadministrar el compuesto con un material para prevenir su inactivación. Las composiciones terapéuticas también pueden administrarse con dispositivos médicos, y varios son conocidas en la técnica.

Los regímenes de dosificación se ajustan para proporcionar la respuesta deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica). Por ejemplo, se puede administrar un solo bolo, se pueden administrar varias dosis divididas a lo largo del tiempo o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación como se usa en este documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación de las formas unitarias de dosificación depende de (a) las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se debe lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de formación de compuestos tal como un compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos.

Un ejemplo de intervalo no limitante, para una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de una molécula de anticuerpo es de 0.1-30 mg/kg, más preferiblemente 1-25 mg/kg. Un experto en la técnica puede determinar las dosis y los regímenes terapéuticos de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra por inyección (por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intravenosa) a una dosis de aproximadamente 1 a 40 mg/kg, por ejemplo, de 1 a 30 mg/kg, por ejemplo, de aproximadamente 5 a 25 mg/kg, aproximadamente 10 a 20 mg/kg, aproximadamente 1 a 5 mg/kg, 1 a 10 mg/kg, 5 a 15 mg/kg, 10 a 20 mg/kg, 15 a 25 mg/kg, o aproximadamente 3 mg/kg. El esquema de dosificación puede variar, por ejemplo, desde una vez a la semana hasta una vez cada 2, 3 o 4 semanas. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra a una dosis de aproximadamente 10 a 20 mg/kg cada dos semanas. La molécula de anticuerpo puede administrarse por infusión intravenosa a una velocidad de más de 20 mg/min, por ejemplo, 20-40 mg/min, y preferiblemente mayor o igual a 40 mg/min para alcanzar una dosis de aproximadamente 35 a 440 mg/m², preferiblemente alrededor de 70 a 310 mg/m², y más preferiblemente, alrededor de 110 a 130 mg/m². En realizaciones, la velocidad de infusión de aproximadamente 110 a 130 mg/m² alcanza un nivel de aproximadamente 3 mg/kg. En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo puede administrarse por infusión intravenosa a una velocidad de menos de 10 mg/min, por ejemplo, menor o igual a 5 mg/min para alcanzar una dosis de aproximadamente 1 a 100 mg/m², por ejemplo, aproximadamente 5 a 50 mg/m², aproximadamente 7 a 25 mg/m², o, aproximadamente 10 mg/m². En algunas realizaciones, el anticuerpo se infunde durante un período de aproximadamente 30 minutos. Se debe tener en cuenta que los valores de dosificación pueden variar con el tipo y la gravedad de la afección a aliviar. Debe entenderse además que para cualquier sujeto en particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse a lo largo del tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de dosificación establecidos en el presente documento son solo ejemplos y no están destinados a limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada.

Las composiciones farmacéuticas en el presente documento pueden incluir una "cantidad terapéuticamente eficaz" o una "cantidad profilácticamente eficaz" de una molécula de anticuerpo. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad efectiva, en dosis y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente efectiva del anticuerpo modificado o fragmento de anticuerpo puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo o la porción de anticuerpo para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz es también una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de la molécula de anticuerpo es superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Una "dosis terapéuticamente efectiva" inhibe

preferiblemente un parámetro medible en al menos aproximadamente el 20%, más preferiblemente en al menos aproximadamente el 40%, incluso más preferiblemente en al menos aproximadamente el 60%, y aún más preferiblemente en al menos aproximadamente el 80% en relación con los sujetos no tratados. El parámetro medible puede ser, por ejemplo, la tasa de crecimiento del tumor o la tasa de crecimiento del patógeno. La capacidad de un compuesto para inhibir un parámetro medible puede evaluarse en un sistema de modelo animal predictivo de eficacia en la enfermedad humana correspondiente. Alternativamente, esta propiedad de una composición puede evaluarse mediante el examen de la capacidad del compuesto para inhibir, dicha inhibición *in vitro* mediante ensayos conocidos por el experto en la técnica.

Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, en dosis y durante los periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado. Típicamente, ya que una dosis profiláctica se usa en sujetos antes o en una etapa más temprana de la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz.

También en esta descripción hay un kit que comprende una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento. El kit puede incluir uno o más elementos adicionales que incluyen: instrucciones de uso; otros reactivos, por ejemplo, una etiqueta, un agente terapéutico, o un agente útil para quelar, o de otra manera acoplar, un anticuerpo a una etiqueta o agente terapéutico, o una composición radioprotectora; dispositivos u otros materiales para preparar la molécula de anticuerpo para administración; vehículos farmacéuticamente aceptables; y dispositivos u otros materiales para la administración a un sujeto.

Usos de moléculas de anticuerpo anti-TIM-3

TIM-3 es una proteína coinhibidora expresada, por ejemplo, en células T CD4+ auxiliares 1 (Th1) activadas y CD8+ citotóxicas que secretan IFN- γ . TIM-3 se coexpresa en gran medida en células T agotadas PD-1+ como se muestra en modelos preclínicos de cáncer y agotamiento viral. El bloqueo conjunto de estas vías puede restaurar la función de las células T efectoras (por ejemplo, secreción de IFN- γ , proliferación) en varios modelos, así como en PBMC humanas derivadas de pacientes con melanoma metastásico y pacientes con HIV o VCH. TIM-3 también está enriquecido con células T reguladoras naturales FoxP3+ (y células reguladoras inducidas negativas para FoxP3), y la expresión de nTreg se correlaciona con la gravedad de la enfermedad en el NSCLC, carcinoma hepatocelular y ovárico. En modelos de ratón las nTreg, TIM-3+ han demostrado ser más inmunosupresores (secretan niveles más altos de IL-10 y TGF- β).

Además, TIM-3 puede desempeñar un papel importante en las células inmunes innatas, incluidas las células NK, monocitos/macrófagos y células dendríticas (DC). TIM-3 se expresa de forma constitutiva en macrófagos y DC, y el bloqueo puede mejorar la secreción de TNF- α de monocitos humanos y aumentar la expresión de NF- κ B en una línea de células dendríticas de ratón. TIM-3 también puede contribuir a la expansión de las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC). La expresión constitutiva de TIM-3 en macrófagos se asocia con menos secreción de IL-12, y la subregulación de TIM-3 después de la activación de TLR puede conducir a IL-12 mejorada y respuestas de células T efectoras posteriores.

Las moléculas de anticuerpo descritas en este documento tienen diagnóstico *in vitro* e *in vivo*, así como utilidades terapéuticas y profilácticas. En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo modulan (por ejemplo, mejoran o inhiben) una respuesta inmune en un sujeto mediante la unión a TIM-3. Por ejemplo, estas moléculas pueden administrarse a células en cultivo, *in vitro* o *ex vivo*, o a un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano, por ejemplo, *in vivo*, para modular (por ejemplo, mejorar o inhibir) la inmunidad.

Por consiguiente, en algunos aspectos, la descripción proporciona un método para modificar una respuesta inmune en un sujeto que comprende administrar al sujeto una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, de modo que la respuesta inmune en el sujeto se modifique. En algunas realizaciones, la respuesta inmune es mejorada, estimulada o sobre regulada. En ciertas realizaciones, la respuesta inmune está inhibida o se subregula. Por ejemplo, estas moléculas de anticuerpo pueden administrarse a células en cultivo, por ejemplo, *in vitro* o *ex vivo*, o en un sujeto, por ejemplo, *in vivo*, para tratar, prevenir y/o diagnosticar una variedad de trastornos, tales como cánceres, trastornos inmunitarios y enfermedades infecciosas.

Como se usa en este documento, el término "sujeto" pretende incluir animales humanos y no humanos. En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto humano, por ejemplo, un paciente humano que tiene un trastorno o afección caracterizado por un funcionamiento anormal de TIM-3. En general, el sujeto tiene al menos alguna proteína TIM-3, incluido el epítipo TIM-3 que está unido por la molécula de anticuerpo, por ejemplo, un nivel suficientemente alto de la proteína y el epítipo para soportar la unión del anticuerpo a TIM-3. El término "animales no humanos" incluye mamíferos y no mamíferos, tales como primates no humanos. En algunas realizaciones, el sujeto es un humano. En algunas realizaciones, el sujeto es un paciente humano que necesita mejorar una respuesta inmune. Los métodos y composiciones descritos en el presente documento son adecuados para tratar pacientes humanos que tienen un trastorno que puede tratarse modulando (por ejemplo, aumentando o inhibiendo) una respuesta inmune.

Métodos de tratamiento de trastornos inmunológicos

TIM-3 es un receptor transmembrana expresado en células T, por ejemplo, células T CD4+, células T CD8+, células T reguladoras y células Th1 diferenciadas. El tráfico dependiente de TIM-3 de las células Th1 al tejido objetivo se puede inhibir con TIM-3 soluble (véase la patente de Estados Unidos No. 7,470,428). En consecuencia, la modulación de la función TIM-3 puede reducir el tráfico de células T en un tejido objetivo, por ejemplo, en sujetos con enfermedad autoinmune. TIM-3 puede desempeñar un papel importante en la inducción de enfermedades autoinmunes al regular la activación y/o función de los macrófagos. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento son adecuadas para su uso en la subregulación de una respuesta inmune no deseada, por ejemplo, el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

Además, como se describe en los Ejemplos de este documento, los anticuerpos anti-TIM-3 pueden estimular la muerte mediada por células NK de células objetivo, y pueden aumentar la secreción de IFN-gamma y la proliferación de células T CD4+. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento son adecuadas para usar en la estimulación de una respuesta inmune deseada, por ejemplo, una respuesta inmune contra una célula cancerosa o un patógeno.

Los anticuerpos anti-TIM-3 descritos en el presente documento pueden usarse para tratar trastornos inmunitarios, especialmente trastornos relacionados con linfocitos T, que incluyen, pero no se limita a, enfermedades y trastornos inflamatorios crónicos, como la enfermedad de Crohn, la artritis reactiva, incluida la enfermedad de Lyme, diabetes dependiente de insulina, autoinmunidad específica de un órgano, incluida esclerosis múltiple, tiroiditis de Hashimoto y enfermedad de Grave, dermatitis de contacto, psoriasis, rechazo de injerto, enfermedad de injerto contra huésped, sarcoidosis, afecciones atópicas, tales como asma y alergia, incluida rinitis alérgica, alergias gastrointestinales, incluidas las alergias alimentarias, la eosinofilia, la conjuntivitis, la nefritis glomerular (por ejemplo, la nefropatía por IgA) y ciertas susceptibilidades a los patógenos, tal como a los helmintos (por ejemplo, la leishmaniosis).

En ciertas realizaciones, el anticuerpo anti-TIM-3 se usa para modular la función de las células T, por ejemplo, células T CD4+, células T CD8+, Treg, Th17 y función Th1. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 causa el bloqueo de TIM-3, y se usa para tratar un trastorno inmunitario que no es una enfermedad dependiente de Th1 (véase Schroll et al., Am J Pathol, abril 2010; 176 (4): 1716-1742). En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 no causa el bloqueo de TIM-3.

En algunos aspectos, la presente descripción proporciona métodos para administrar una molécula de anticuerpo anti-TIM-3, que resulta en la promoción o reducción del tráfico de células T a un tejido objetivo, promoviendo o inhibiendo la activación de células presentadoras de antígeno (APC).

En algunas realizaciones, el sujeto necesita tratamiento para una enfermedad autoinmune. La enfermedad autoinmune incluye aquellas en las que los anticuerpos propios de un sujeto reaccionan con el tejido del huésped o en el que las células T efectoras inmunitarias son autorreactivas con los propios péptidos endógenos y causan la destrucción del tejido. Por lo tanto, se monta una respuesta inmunitaria contra los antígenos propios de un sujeto, denominados antígenos propios. Las enfermedades autoinmunes incluyen pero no se limitan a, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, por ejemplo, enfermedad de Crohn pediátrica, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico (SLE), encefalomiелitis autoinmune, miastenia grave (MG), tiroiditis de Hashimoto, síndrome de Goodpasture, pénfigo, (por ejemplo, pénfigo vulgar), enfermedad de Grave, anemia hemolítica autoinmune, púrpura trombocitopénica autoinmune, esclerodermia con anticuerpos anticolágeno, enfermedad mixta del tejido conectivo, polimiositis, anemia perniciosa, enfermedad de Addison idiopática, infertilidad asociada a autoinmunidad, glomerulonefritis (por ejemplo, glomerulonefritis crescentica, glomerulonefritis proliferativa), penfigoide bulloso, síndrome de Sjogren, resistencia a la insulina, diabetes mellitus autoinmune (diabetes mellitus tipo 1; diabetes mellitus dependiente de insulina), aterosclerosis y enfermedad de Alzheimer.

En algunos aspectos, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento se administra para tratar una respuesta inmune no deseada a un alérgeno. Los ejemplos de alérgenos naturales de animales y plantas incluyen proteínas específicas para los siguientes géneros: Canine (Canis familiaris); Dermatophagoides (por ejemplo, Dermatophagoides farinae); Felis (felis domesticus); Ambrosia (Ambrosia artemisiifolia); Lolium (por ejemplo, Lolium perenne o Lolium multiflorum); Cryptomeria (Cryptomeria japonica); Alternaria (Alternaria alternata); Alder; Alnus (Alnus gultinosa); Betula (Betula verrucosa); Quercus (Quercus alba); Olea (Olea europaea); Artemisia (Artemisia vulgaris); Plantago (por ejemplo, Plantago lanceolata); Parietaria (por ejemplo, Parietaria officinalis o Parietaria judaica); Blattella (por ejemplo, Blattella germanica); Apis (por ejemplo, Apis multiflorum); Cupressus (por ejemplo, Cupressus sempervirens, Cupressus arizonica y Cupressus macrocarpa); Juniperus (por ejemplo, Juniperus sabinoides, Juniperus virginiana, Juniperus communis y Juniperus ashei); Thuya (por ejemplo, Thuya orientalis); Chamaecyparis por ejemplo, Chamaecyparis obtusa); Periplaneta (por ejemplo, Periplaneta americana); Agropyron (por ejemplo, Agropyron repens); Secale (por ejemplo, Secale cereale); Triticum (por ejemplo, Triticum aestivum); Dactylis (por ejemplo, Dactylis glomerata); Festuca (por ejemplo, Festuca elatior); Poa (por ejemplo, Poa pratensis o Poa compressa) Avena (por ejemplo, Avena sativa); Holcus (por ejemplo, Holcus lanatus); Anthoxanthum (por ejemplo, Anthoxanthum odoratum); Arrhenatherum (por ejemplo, Arrhenatherum elatius); Agrostis (por ejemplo, Agrostis alba); Phleum (por ejemplo, Phleum pratense); Phalaris (por ejemplo, Phalaris arundinacea); Paspalum (por ejemplo, Paspalum notatum); Sorghum (por ejemplo, Sorghum halepensis); y Bromus (por ejemplo, Bromus inermis).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra para tratar esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, sepsis, el SIRS (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica) o glomerulonefritis.

Métodos para tratar cáncer

5 En algunos aspectos, la presente descripción proporciona métodos para administrar una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 para tratar el cáncer. Si bien no desea limitarse a la teoría, en algunas realizaciones, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 estimula el sistema inmunitario de un paciente para reconocer y destruir las células cancerosas, y así tratar el cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer a tratar expresa TIM-3, y la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se dirige a las células o células cancerosas en el microambiente del cáncer.

10 En algunos aspectos, la presente descripción se refiere al tratamiento de un sujeto *in vivo* usando una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 tal que se inhibe el crecimiento de tumores cancerosos. Un anticuerpo anti-TIM-3 puede usarse solo para inhibir el crecimiento de tumores cancerosos. Alternativamente, un anticuerpo anti-TIM-3 se puede usar en combinación con uno o más de: un tratamiento estándar contra el cáncer (por ejemplo, para el cáncer o trastornos infecciosos), u otro anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, un inmunomodulador (por ejemplo, un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula inhibidora); una vacuna, (por ejemplo, una vacuna contra el cáncer); u otras formas de inmunoterapia celular, como se describe a continuación.

15 Por consiguiente, en algunas realizaciones, la descripción proporciona un método para inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento.

20 En algunas realizaciones, los métodos son adecuados para el tratamiento del cáncer *in vivo*. Para lograr un aumento de inmunidad específico del antígeno, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede administrar junto con un antígeno de interés. Cuando los anticuerpos contra TIM-3 se administran en combinación con uno o más agentes, la combinación puede administrarse en cualquier orden o simultáneamente.

Tipos de cancer

25 En ciertos aspectos, se proporciona un método para tratar a un sujeto, por ejemplo, reducir o mejorar, una afección o trastorno hiperproliferativo (por ejemplo, un cáncer), por ejemplo, un tumor sólido, un cáncer hematológico, un tumor de tejidos blandos o una lesión metastásica, en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto una o más moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento, solas o en combinación con otros agentes o modalidades terapéuticas.

30 Como se usa en el presente documento, el término "cáncer" pretende incluir todos los tipos de crecimientos cancerosos o procesos oncogénicos, tejidos metastásicos o células, tejidos u órganos transformados de manera maligna, independientemente del tipo histopatológico o el estadio de invasividad. Los ejemplos de trastornos cancerosos incluyen, pero no se limita a, tumores sólidos, cánceres hematológicos, tumores de tejidos blandos y lesiones metastásicas. Los ejemplos de tumores sólidos incluyen tumores malignos, por ejemplo, sarcomas y carcinomas (incluidos adenocarcinomas y carcinomas de células escamosas) de los diversos sistemas de órganos, tal como los que afectan el hígado, pulmón, mama, sistema linfático, tracto gastrointestinal (por ejemplo, colon), genitourinario (por ejemplo, renal, células uroteliales), próstata y faringe. Los adenocarcinomas incluyen neoplasias malignas como la mayoría de los cánceres de colon, cáncer rectal, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, carcinoma de células no pequeñas del pulmón, cáncer del intestino delgado y cáncer de esófago. Los carcinomas de células escamosas incluyen tumores malignos, por ejemplo, en el pulmón, esófago, piel, región de cabeza y cuello, cavidad oral, ano y cuello uterino. En una realización, el cáncer es un melanoma, por ejemplo, un melanoma en etapa avanzada. Las lesiones metastásicas de los cánceres mencionados anteriormente también pueden tratarse o prevenirse utilizando los métodos y composiciones descritos en este documento.

45 Los ejemplos de cánceres cuyo crecimiento puede inhibirse usando las moléculas de anticuerpo descritas en el presente documento incluyen cánceres típicamente sensibles a la inmunoterapia. Los ejemplos no limitantes de cánceres adecuados para el tratamiento incluyen melanoma (por ejemplo, melanoma metastásico maligno), cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células claras), cáncer de próstata (por ejemplo, adenocarcinoma de próstata refractario a hormonas), cáncer de mama, cáncer de colon y cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas). Además, las neoplasias malignas refractarias o recurrentes pueden tratarse utilizando las moléculas de anticuerpos descritas en este documento.

50 Los cánceres incluyen, pero sin limitarse a, carcinoma de células basales, cáncer del tracto biliar; cáncer de vejiga; cáncer de hueso; cáncer cerebral y del SNC; linfoma primario del SNC; neoplasia del sistema nervioso central (SNC); cáncer de mama; cáncer de cuello uterino; coriocarcinoma; cáncer de colon y recto; cáncer de tejido conectivo; cáncer del sistema digestivo; cáncer endometrial; cáncer de esófago; cáncer de ojo; Cáncer de cabeza y cuello; cáncer gástrico; neoplasia intraepitelial; cáncer de riñón; cáncer de laringe; leucemia (incluida la leucemia mieloide aguda, la leucemia mieloide crónica, la leucemia linfoblástica aguda, la leucemia linfocítica crónica, la leucemia crónica o aguda);
55 cáncer de hígado; cáncer de pulmón (por ejemplo, células pequeñas y células no pequeñas); linfoma que incluye linfoma de Hodgkin y no Hodgkin; linfoma linfocítico; melanoma, por ejemplo, melanoma maligno cutáneo o intraocular; mieloma neuroblastoma; cáncer de la cavidad oral (por ejemplo, labio, lengua, boca y faringe); cáncer de ovarios;

cáncer de páncreas; cáncer de próstata; retinoblastoma; rhabdomioma; cáncer rectal; cáncer del sistema respiratorio; sarcoma; cáncer de piel; cáncer de estómago; cáncer testicular; cáncer de tiroides; cáncer uterino; cáncer del sistema urinario, hepatocarcinoma, cáncer de la región anal, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de la vagina, carcinoma de la vulva, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula paratiroidea, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejido blando, cáncer de la uretra, cáncer de pene, tumores sólidos de la infancia, tumor del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma hipofisario, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas, linfoma de células T, cánceres inducidos por el medio ambiente, incluidos los inducidos por el amianto, así como otros carcinomas y sarcomas, y combinaciones de dichos cánceres.

En algunas realizaciones, el cáncer tratado con las moléculas de anticuerpo incluye, pero no se limita a, tumores sólidos, cánceres hematológicos, tumores de tejidos blandos y lesiones metastásicas. Los ejemplos de tumores sólidos incluyen tumores malignos, por ejemplo, sarcomas, adenocarcinomas y carcinomas, de los diversos sistemas de órganos, tales como los que afectan al pulmón, las mamas, linfoides, gastrointestinal (por ejemplo, el colon), los genitales y el tracto genitourinario (por ejemplo, renal, urotelial, células de la vejiga), faringe, SNC (por ejemplo, células cerebrales, neurales o gliales), piel (por ejemplo, melanoma) y páncreas, así como adenocarcinomas que incluyen neoplasias malignas tales como la mayoría de los cánceres de colon, cáncer rectal, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, carcinoma de células no pequeñas del pulmón, cáncer del intestino delgado y cáncer del esófago. Los métodos y composiciones descritos en el presente documento también son útiles para tratar lesiones metastásicas asociadas con los cánceres mencionados anteriormente.

Si bien no se desea limitarse a la teoría, en algunas realizaciones, es más probable que un paciente responda al tratamiento con un inmunomodulador (opcionalmente en combinación con uno o más agentes como se describe en el presente documento) si el paciente tiene un cáncer que exprese altamente PD-L1, y/o el cáncer está infiltrado por células inmunitarias antitumorales, por ejemplo, TIL. Las células inmunitarias antitumorales pueden ser positivas para CD8, PD-L1 y/o IFN- γ ; por lo tanto, los niveles de CD8, PD-L1 y/o IFN- γ pueden servir como una lectura de los niveles de TIL en el microambiente. En ciertas realizaciones, el microentorno del cáncer se denomina triple positivo para PD-L1/CD8/IFN- γ .

Por consiguiente, en ciertos aspectos, esta solicitud proporciona métodos para determinar si una muestra de tumor es positiva para uno o más de PD-L1, CD8 e IFN- γ , y si la muestra de tumor es positiva para uno o más, por ejemplo, dos, o los tres, de los marcadores, entonces se administra al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una molécula de anticuerpo anti-PD-1, opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores o agentes anticancerígenos, por ejemplo, un anticuerpo anti-TIM3 como se describe en el presente documento.

En las siguientes indicaciones, una gran parte de los pacientes son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ : cáncer de pulmón (escamoso); cáncer de pulmón (adenocarcinoma); cáncer de cabeza y cuello; cáncer de estómago; NSCLC; HNSCC; cánceres gástricos (por ejemplo, MSIhi y/o EBV+); CRC (por ejemplo, MSIhi); cáncer nasofaríngeo (NPC); cáncer cervical (por ejemplo, escamoso); cáncer de tiroides, (por ejemplo, tiroides papilar); melanoma; cáncer de mama TN; y DLBCL (linfoma de células B grandes difusas). En el cáncer de mama en general y en el cáncer de colon en general, una fracción moderada de pacientes es triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ . En las siguientes indicaciones, una pequeña fracción de pacientes son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ : cáncer de mama ER+ y cáncer de páncreas. Estos hallazgos se analizan más detalladamente en el Ejemplo 9. Independientemente de si una fracción grande o pequeña de pacientes es triple positivo para estos marcadores, el cribado de los pacientes para estos marcadores permite identificar una fracción de pacientes que tiene una probabilidad especialmente alta de responder favorablemente a la terapia con un anticuerpo PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo bloqueador PD-1), opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en este documento, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, o una molécula de anticuerpo anti-PD-L1) y/o agentes anticancerígenos, por ejemplo, aquellos enumerados en la Tabla 6 y descritos en las publicaciones enumeradas en la Tabla 6.

En algunas realizaciones, la muestra de cáncer se clasifica como triple positiva para PDL1/CD8/IFN- γ . Esta medida se puede dividir aproximadamente en dos umbrales: si una célula individual se clasifica como positiva y si la muestra en su conjunto se clasifica como positiva. Primero, se puede medir, dentro de una célula individual, el nivel de PD-L1, CD8 y/o IFN- γ . En algunas realizaciones, una célula que es positiva para uno o más de estos marcadores es una célula que tiene un nivel más alto del marcador en comparación con una célula de control o un valor de referencia. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un mayor nivel de PD-L1 en una célula dada es un nivel más alto que el nivel de PD-L1 en un tejido no canceroso correspondiente en el paciente. Como otro ejemplo, en algunas realizaciones, un nivel alto de CD8 o IFN- γ en una célula dada es un nivel de esa proteína que se observa típicamente en un TIL. En segundo lugar, también se puede medir el porcentaje de células en la muestra que son positivas para PD-L1, CD8 y/o IFN- γ . (No es necesario que una sola célula exprese los tres marcadores). En algunas realizaciones, una muestra triple positiva es una que tiene un alto porcentaje de células, por ejemplo, más alto que un valor de referencia o más alto que una muestra de control, que son positivas para estos marcadores.

En otras realizaciones, se pueden medir los niveles de PDL1, CD8 y/o IFN- γ en general en la muestra. En este caso, un nivel alto de CD8 o IFN- γ en la muestra puede ser el nivel de esa proteína que se observa típicamente en un tumor infiltrado con TIL. De manera similar, un nivel alto de PD-L1 puede ser el nivel de esa proteína observada típicamente en una muestra tumoral, por ejemplo, un microambiente tumoral.

La identificación de subconjuntos de pacientes que son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ , como se muestra en el Ejemplo 10 de este documento, revela ciertas subpoblaciones de pacientes que probablemente respondan especialmente a la terapia con el anticuerpo PD-1. Por ejemplo, muchos pacientes con cáncer de mama IM-TN (inmunomodulador, triple negativo) son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ . El cáncer de mama IM-TN se describe, por ejemplo, en Brian D. Lehmann et al., "Identification of human triplenegative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies", J Clin Invest. 1 de julio de 2011; 121 (7): 2750-2767. Los cánceres de mama triple negativos son aquellos que no expresan el receptor de estrógeno (ER), el receptor de progesterona (PR) y Her2/neu. Estos cánceres son difíciles de tratar porque, por lo general, no responden a los agentes dirigidos a ER, PR y Her2/neu. Los cánceres de mama triple negativos pueden subdividirse en diferentes clases, una de las cuales es inmunomoduladora. Como se describe en Lehmann et al., El cáncer de mama IM-TN está enriquecido por los factores involucrados en los procesos de las células inmunitarias, por ejemplo, una o más de las señales de las células inmunitarias (por ejemplo, Vía TH1/TH2, vía de las células NK, vía de señalización del receptor de las células B, la vía de la CC y la señalización del receptor de células T), la señalización de las citoquinas (por ejemplo, la vía de las citoquinas, la vía de la IL-12 y la vía de la IL-7), el procesamiento y la presentación del antígeno, la señalización a través de las vías de transducción de señales inmunes centrales (por ejemplo, señalización de NF κ B, TNF y JAK/STAT), genes implicados en la función de las células T, transcripción inmune, respuesta al interferón (IFN) y procesamiento de antígenos.

Como otro ejemplo, se muestra en el presente documento que un subconjunto de pacientes con cáncer de colon que tienen MSI alto (inestabilidad microsatelital) también es triple positivo para PD-L1/CD8/IFN- γ . Por consiguiente, en algunas realizaciones, un anticuerpo PD-1, opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores tales como un anticuerpo TIM-3 descrito en este documento, un anticuerpo LAG-3, o un anticuerpo PD-L1, y uno o más agentes anticancerosos, por ejemplo, un agente contra el cáncer descrito en la Tabla 6 o en una publicación en la Tabla 6, se administra a un paciente que tiene, o se identifica que tiene, cáncer de colon con MSI alto, tratando por lo tanto, el cáncer. En algunas realizaciones, una célula con MSI alto es una célula que tiene MSI a un nivel más alto que un valor de referencia o una célula de control, por ejemplo, una célula no cancerosa del mismo tipo de tejido que el cáncer.

Como otro ejemplo, se muestra en el presente documento que un subconjunto de pacientes con cáncer gástrico que tienen MSI alto, y/o que es EBV+, también es triple positivo para PD-L1/CD8/IFN- γ . Por consiguiente, en algunas realizaciones, un anticuerpo PD-1, opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores tales como un anticuerpo TIM-3 descrito en este documento, un anticuerpo LAG-3, o un anticuerpo PD-L1, y uno o más agentes anticancerosos, por ejemplo, un agente contra el cáncer descrito en la Tabla 6 o en una publicación en la Tabla 6 se administra a un paciente que tiene, o se identifica que tiene, cáncer gástrico con MSI alto y/o EB +, tratando por lo tanto, el cáncer. En algunas realizaciones, una célula con MSI alto es una célula que tiene MSI a un nivel más alto que un valor de referencia o una célula de control, por ejemplo, una célula no cancerosa del mismo tipo de tejido que el cáncer.

Además, en el presente documento se describen métodos para analizar el cáncer de PD-L1 y luego tratar el cáncer con un anticuerpo PD-1, opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores tales como un anticuerpo TIM-3 descrito en el presente documento, un anticuerpo LAG 3, o anticuerpos PD-L1. Como se describe en el Ejemplo 10 de este documento, una muestra de cáncer puede analizarse para determinar los niveles de proteína PD-L1 o los niveles de ARNm. Una muestra que tenga niveles de PD-L1 (proteína o ARNm) más altos que un valor de referencia o una célula de control (por ejemplo, una célula no cancerosa) puede clasificarse como positiva para PD-L1. Por consiguiente, en algunas realizaciones, un anticuerpo PD-1 (opcionalmente en combinación con uno o más agentes anticancerosos, opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, tales como un anticuerpo TIM-3 descrito en el presente documento, un anticuerpo LAG-3 o PD). El anticuerpo -L1 se administra a un paciente que tiene, o se identifica que tiene, un cáncer que es positivo para PD-L1. El cáncer puede ser, por ejemplo, un adenocarcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) (ACA), carcinoma de células escamosas (NSCLC) (SCC) o carcinoma hepatocelular (HCC).

Con base, por ejemplo en, el Ejemplo 9 en este documento, se encontró que ciertos cánceres gástricos que son triple positivos para PD-L1/CD8/IFN- γ también son positivos para PIK3CA. Por consiguiente, en algunas realizaciones, un cáncer puede ser tratado con una molécula de anticuerpo anti-PD-1 (opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, o una molécula de anticuerpo anti-PD-L1) y un agente que inhibe PIK3CA. Los ejemplos de agentes en esta categoría se describen en Stein RC (septiembre de 2001). "Prospects for phosphoinositide 3-kinase inhibition as a cancer treatment". Endocrine-related Cancer 8 (3): 237-48 y Marone R, Cmiljanovic V, Giese B, Wymann MP (enero de 2008). "Targeting phosphoinositide 3-kinase: moving towards therapy". Biochimica et Biophysica Acta 1784 (1): 159-85.

Con base, por ejemplo, en el Ejemplo 9 de este documento, el CRC, por ejemplo, un paciente que tiene (o se identifica que tiene) CRC con MSI alto puede tratarse con un anticuerpo PD-1, opcionalmente en combinación con un agente terapéutico que se dirige a uno o más de TIM-3, por ejemplo, anticuerpo anti-TIM-3 descrito en el presente documento, LAG-3, RNF43, y BRAF. Por ejemplo, estos cánceres pueden tratarse con un anticuerpo PD-1, opcionalmente en combinación con uno o más agentes terapéuticos que se dirigen a uno o más de TIM-3, LAG-3, PD-1, RNF43 y BRAF. En realizaciones, uno o más agentes terapéuticos incluyen inmunomoduladores tales como un anticuerpo anti-TIM-3 descrito en el presente documento, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3 y un agente anticáncer descrito en la Tabla 6 o una publicación enumerada en la Tabla 6. Los inhibidores de LAG-3, por ejemplo, anticuerpos, se describen en el presente documento. RNF43 puede inhibirse, por ejemplo, con un anticuerpo, una molécula pequeña (por ejemplo, 2-(2', 3-dimetil-[2,4'-bipiridina]-5-il)-N-(5-(pirazin-2-il)piridin-2-il)acetamida (Compuesto A28), ARNip, o un ligando de Rspo o un derivado del mismo. Los inhibidores de BRAF (por ejemplo, vemurafenib o dabrafenib) se describen en el presente documento.

Con base, por ejemplo, en el Ejemplo 9 de este documento, un paciente que tiene (o se identifica que tiene) un cáncer de pulmón de células escamosas puede tratarse con una molécula de anticuerpo PD-1 en combinación con un agente terapéutico que se dirige a TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo TIM-3, LAG-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo LAG-3, y opcionalmente con uno o más agentes anticancerígenos, por ejemplo, un agente anticancerígeno descrito en la Tabla 6 o en una publicación en la Tabla 6.

En algunas realizaciones, un sujeto que tiene (o se identifica que tiene) un cáncer de pulmón de células escamosas puede tratarse con un anticuerpo PD-1, opcionalmente en combinación con un agente terapéutico que se dirige a TIM-3, por ejemplo, un anticuerpo TIM-3 descrito en el presente documento.

Con base, por ejemplo, en el Ejemplo 9 de este documento, un paciente que tiene (o se identifica que tiene) un cáncer de tiroides puede tratarse con una molécula de anticuerpo PD-1, opcionalmente en combinación con un agente terapéutico que se dirige a BRAF, y opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento, y una molécula de anticuerpo anti-PD-L1. Los inhibidores de BRAF (por ejemplo, vemurafenib o dabrafenib) se describen en el presente documento, por ejemplo, en la Tabla 6 y las publicaciones enumeradas en la Tabla 6.

En otras realizaciones, el cáncer es una neoplasia maligna hematológica o cáncer que incluye, pero no se limita a, una leucemia o un linfoma. Por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede usar para tratar cánceres y neoplasias malignas que incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, leucemias agudas, que incluyen pero no se limitan a, por ejemplo, leucemia linfocítica aguda de células B ("BALL"), leucemia linfocítica aguda de células T ("TALL"), leucemia linfocítica aguda (ALL); una o más leucemias crónicas que incluyen pero no se limitan a, por ejemplo, leucemia mielógena crónica (CML), leucemia linfocítica crónica (CLL); cánceres hematológicos adicionales o afecciones hematológicas que incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, leucemia prolinfocítica de células B, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas, linfoma de Burkitt, linfoma difuso de células B grandes, linfoma folicular, leucemia de células pilosas, linfoma folicular de células pequeñas o células grandes, afecciones linfoproliferativas malignas, linfoma MALT, linfoma de células del manto, linfoma de la zona marginal, mieloma múltiple, mielodisplasia y síndrome mielodisplásico, linfoma no Hodgkin, linfoma plasmablastico, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides, macroglobulinemia de Waldenstrom, y "preleucemia", que son una colección diversa de condiciones hematológicas unidas por una producción ineficaz (o displasia) de las células sanguíneas mieloides, y similares.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa para tratar un cáncer que expresa TIM-3. Los cánceres que expresan TIM-3 incluyen cáncer cervical (Cao et al., PLoS One. 2013; 8 (1): e53834), cáncer de pulmón (Zhuang et al., Am J Clin Pathol. 2012; 137 (6): 978- 985) (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas), leucemia mieloide aguda (Kikushige et al., Cell Stem Cell. Diciembre 3 de 2010; 7 (6): 708-17), linfoma difuso de células B grandes, melanoma (Fourcade et al., JEM, 2010; 207 (10): 2175), cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC), por ejemplo, carcinoma de células claras del riñón, carcinoma de células papilares del riñón o carcinoma de células renales metastásico), carcinoma de células escamosas, carcinoma de células escamosas esofágicas, carcinoma nasofaríngeo, cáncer colorrectal, cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama que no expresa uno, dos o todos los receptores de estrógeno, receptor de progesterona o Her2/neu, por ejemplo, cáncer de mama triple negativo), mesotelioma, carcinoma hepatocelular y cáncer de ovario. El cáncer que expresa TIM-3 puede ser un cáncer metastásico. En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa para tratar un cáncer que se caracteriza por la actividad de macrófagos o la alta expresión de marcadores celulares de macrófagos. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa para tratar un cáncer que se caracteriza por la alta expresión de uno o más de los siguientes marcadores de células de macrófagos: LILRB4 (receptor inhibidor de macrófagos), CD14, CD16, CD68, MSR1, SIGLEC1, TREM2, CD163, ITGAX, ITGAM, CD11b o CD11c. Ejemplos de tales cánceres incluyen, pero no se limitan a, linfoma difuso de células B grandes, glioblastoma multiforme, carcinoma renal de células claras de riñón, adenocarcinoma pancreático, sarcoma, carcinoma hepatocelular de hígado, adenocarcinoma pulmonar, carcinoma renal de células papilares de riñón, melanoma cutáneo de piel, glioma cerebral de grado inferior, carcinoma de células escamosas de pulmón, cistoadenocarcinoma de ovario grave, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma invasivo de mama, leucemia mieloide aguda, carcinoma de células escamosas de cuello uterino, adenocarcinoma endocervical, carcinoma uterino, carcinoma endometrial de cuerpo uterino, carcinoma de tiroides carcinoma urotelial de vejiga, carcinoma adrenocortical, cromófobo renal y adenocarcinoma de próstata.

En una realización, el cáncer es un cáncer de pulmón, por ejemplo, un adenocarcinoma de pulmón.

En otra realización, el cáncer es un cáncer renal, por ejemplo, un carcinoma de células renales (RCC) (por ejemplo, un carcinoma de células claras de riñón o un carcinoma de células papilares de riñón), o una lesión metastásica del mismo.

5 En otra realización más, el cáncer es un mesotelioma.

En otra realización más, el cáncer es un carcinoma nasofaríngeo (NPC).

En otra realización más, el cáncer es un cáncer hematológico (por ejemplo, una leucemia mieloide, por ejemplo, leucemia mieloide aguda (AML)).

En otra realización más, el cáncer es un linfoma (por ejemplo, un linfoma difuso de células B grandes).

10 En otra realización más, el cáncer es cáncer de mama, por ejemplo, subtipo triple negativo (TN) y/o inmunomodulador.

En otra realización más, el cáncer es glioblastoma multiforme.

En otra realización más, el cáncer es un cáncer de ovario (por ejemplo, carcinoma de ovario).

En ciertas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido y la molécula de anticuerpo se administra en combinación con una molécula de anticuerpo anti-LAG-3 o anti-PD-1.

15 Combinación de anticuerpos anti-TIM-3 con vacunas contra el cáncer

Las moléculas de anticuerpo para TIM-3 se pueden combinar con un agente inmunogénico, tal como células cancerosas, antígenos tumorales purificados (que incluyen proteínas recombinantes, péptidos y moléculas de carbohidratos), células y células transfectadas con genes que codifican citoquinas estimuladoras inmunes (He et al., (2004) J. Immunol. 173: 4919-28). Ejemplos no limitativos de vacunas tumorales que se pueden usar incluyen péptidos de antígenos de melanoma, tales como péptidos de gp100, antígenos MAGE, Trp-2, MART1 y/o tirosinasa, o células tumorales transfectadas para expresar la citoquina GM-CSF, vacunas basadas en ADN, vacunas basadas en ARN y vacunas basadas en transducción viral. La vacuna contra el cáncer puede ser profiláctica o terapéutica.

20 En algunas realizaciones, la terapia con una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se combina con un protocolo de vacunación. Se han ideado muchas estrategias experimentales para la vacunación contra tumores (véase Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C., 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738; véase también Restifo, N. y Sznol, M., Cancer Vaccines, Capítulo. 61, páginas 3023-3043 en De Vita, V. et al., (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology. Quinta edición). En una de estas estrategias, una vacuna se prepara utilizando células tumorales autólogas o alogénicas. Estas vacunas celulares han demostrado ser más efectivas cuando las células tumorales se transducen para expresar GM-CSF. Se ha demostrado que GM-CSF es un potente activador de la presentación de antígenos para la vacunación de tumores (Dranoff et al., (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 90: 3539-43).

25 Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 se pueden usar junto con una colección de proteínas y/o péptidos recombinantes expresados en un tumor para generar una respuesta inmune a estas proteínas. Estas proteínas normalmente son vistas por el sistema inmunológico como antígenos propios y, por lo tanto, son tolerantes a ellas. El antígeno tumoral también puede incluir la proteína telomerasa, que se requiere para la síntesis de los telómeros de los cromosomas y que se expresa en más del 85% de los cánceres humanos y solo en un número limitado de tejidos somáticos (Kim, N et al., (1994). Science 266: 2011-2013). (Estos tejidos somáticos pueden protegerse de ataques inmunes por varios medios). Los antígenos tumorales también pueden ser "neoantígenos" expresados en células cancerosas debido a mutaciones somáticas que alteran la secuencia proteica o crean proteínas de fusión entre dos secuencias no relacionadas (por ejemplo, bcr-abl en el cromosoma Filadelfia) o el idiotipo de tumores de células B.

30 Otras vacunas contra tumores pueden incluir las proteínas de los virus implicados en los cánceres humanos, tales como virus del Papiloma Humano (HPV), virus de la Hepatitis (HBV y HCV) y virus de sarcoma del herpes de Kaposi (KHSV), y virus de Epstein-Barr (EBV). Otra forma de antígeno específico de tumor que puede usarse junto con un anticuerpo anti-TIM-3 son las proteínas de choque térmico purificadas (HSP) aisladas del tejido tumoral en sí. Estas proteínas de choque térmico contienen fragmentos de proteínas de las células tumorales y estas HSP son altamente eficientes en el suministro a células presentadoras de antígeno para provocar inmunidad tumoral (Suot, R & Srivastava, P (1995) Science 269: 1585-1588; Tamura, Y. et al., (1997) Science 278: 117-120).

35 Las células dendríticas (DC) son potentes células presentadoras de antígeno que pueden usarse para cebar respuestas específicas de antígenos. Las DC pueden producirse *ex vivo* y cargarse con diversos antígenos de proteínas y péptidos, así como con extractos de células tumorales (Nestle, F. et al., (1998) Nature Medicine 4: 328-332). Las DC también se pueden transducir por medios genéticos para expresar también estos antígenos tumorales. Las DC también se han fusionado directamente con células tumorales para los propósitos de inmunización (Kugler, A.

et al., (2000) Nature Medicine 6: 332-336). Como método de vacunación, la inmunización con DC puede combinarse eficazmente con una terapia anti-TIM-3 para activar respuestas antitumorales más potentes.

Como alternativa o en combinación, la combinación incluye además un inhibidor o activador de un modulador del punto de control inmunitario, por ejemplo, un inhibidor de LAG-3 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3), un inhibidor de PD-L1 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-PD-L1), un inhibidor de PD-1 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-PD-1), o un inhibidor de CTLA-4 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA-4), o cualquier combinación de los mismos.

El bloqueo de TIM-3 también se puede combinar con un tratamiento estándar contra el cáncer. El bloqueo de TIM-3 puede combinarse eficazmente con regímenes quimioterapéuticos. En estos casos, puede ser posible reducir la dosis del reactivo quimioterapéutico administrado (Mokyr, M. et al., (1998) Cancer Research 58: 5301-5304). En ciertas realizaciones, los métodos y composiciones descritos en el presente documento se administran en combinación con una o más de otras moléculas de anticuerpos, quimioterapia, otras terapias contra el cáncer (por ejemplo, terapias dirigidas contra el cáncer o fármacos oncolíticos), agentes citotóxicos, terapias con base en el sistema inmunitario (por ejemplo, citoquinas), procedimientos quirúrgicos y/o de radiación. Los ejemplos de agentes citotóxicos que pueden administrarse en combinación incluyen agentes antimicrotúbulos, inhibidores de topoisomerasa, antimetabolitos, inhibidores mitóticos, agentes alquilantes, antraciclinas, alcaloides de la vinca, agentes intercalantes, agentes capaces de interferir con una vía de transducción de señales, agentes que promueven la apoptosis, inhibidores del proteosoma y radiación (por ejemplo, irradiación local o de todo el cuerpo).

Como alternativa, o en combinación con las combinaciones mencionadas anteriormente, los métodos y composiciones descritos en el presente documento pueden administrarse en combinación con uno o más de: un inmunomodulador (por ejemplo, un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula inhibidora); una vacuna, por ejemplo, una vacuna terapéutica contra el cáncer; u otras formas de inmunoterapia celular.

Los ejemplos no limitantes de combinaciones y usos de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 incluyen las siguientes.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un modulador de una molécula coestimuladora o una molécula inhibidora, por ejemplo, un ligando o receptor coinhibitorio.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un modulador, por ejemplo, un agonista, de una molécula coestimuladora. En una realización, el agonista de la molécula coestimuladora se elige de un agonista (por ejemplo, un anticuerpo agonista o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una fusión soluble) del ligando OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a)/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LUZ, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 o CD83.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con una molécula coestimuladora, por ejemplo, un agonista asociado con una señal positiva que incluye un dominio coestimulador de CD28, CD27, ICOS y GITR.

Los ejemplos de agonistas de GITR incluyen, por ejemplo, proteínas de fusión GITR y anticuerpos anti-GITR (por ejemplo, anticuerpos bivalentes anti-GITR), tales como una proteína de fusión GITR descrita en la patente de Estados Unidos No: 6,111,090, patente Europea N°: 090505B1, patente de Estados Unidos No: 8,586,023, publicación PCT No: WO 2010/003118 y 2011/090754, o un anticuerpo anti-GITR descrito, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No 7,025,962, patente europea No.: 1947183B1, patente de Estados Unidos No.: 7,812,135, patente de Estados Unidos No: 8,388,967, patente de Estados Unidos No: 8,591,886, patente europea No.: EP 1866339, publicación PCT No.: WO 2011/028683, publicación PCT No.: WO 2013/039954, publicación PCT No.: WO 2005/007190, publicación PCT No.: WO 2007/133822, publicación PCT No.: WO 2005/055808, publicación PCT No.: WO 99/40196, publicación PCT No.: WO 2001/03720, publicación PCT No.: WO 99/20758, publicación PCT No.: WO 2006/083289, publicación PCT No.: WO 2005/115451, patente de Estados Unidos No.: 7,618,632, y publicación PCT No.: WO 2011/051726.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario (o molécula inhibidora inmune). El término "puntos de control inmunitarios", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de moléculas en la superficie celular de células inmunitarias, por ejemplo, células T CD4 y CD8 que pueden servir como "frenos" para modular o inhibir una respuesta inmunitaria, por ejemplo, una respuesta inmune antitumoral. Las moléculas de punto de control inmunitario incluyen, pero no se limitan a, muerte programada 1 (PD-1), PD-L1, antígeno citotóxico de linfocitos T 4 (CTLA-4), B7-H1, B7-H3, B7-H4, OX-40, 4-1BB (CD137), CD40, dominio de inmunoglobulina de células T y dominio de mucina 3 (TIM-3) y gen de activación de linfocitos 3 (LAG-3), entre otros. Los agentes inmunoterapéuticos que pueden actuar como inhibidores de las moléculas de punto de control inmunitario útiles en combinación con las moléculas anti-PD-1 descritas en este documento, incluyen, pero no se limita a, inhibidores de PD-L1, PD-L2, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3, y/o CEACAM-5), y/o TGFR beta. La inhibición de una molécula inhibidora inmune puede realizarse por inhibición a nivel de ADN, ARN o proteína. En realizaciones, se puede usar un ácido nucleico inhibidor (por ejemplo, un ARNbc, ARNip o ARNhp), para inhibir la expresión de una molécula inhibidora. En otras realizaciones, el inhibidor de una señal inhibidora es, un polipéptido,

por ejemplo, un ligando soluble, o un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a la molécula inhibidora.

En una realización, el inhibidor es un ligando soluble (por ejemplo, un CTLA-4-Ig o un TIM-3-Ig), o un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a CTLA-4. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede administrarse en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, ipilimumab, por ejemplo, para tratar un cáncer (por ejemplo, un cáncer elegido de: un melanoma, por ejemplo, un melanoma metastásico; un cáncer de pulmón, por ejemplo, un carcinoma de pulmón de células no pequeñas, o un cáncer de próstata). Los ejemplos de anticuerpos anti-CTLA-4 incluyen Tremelimumab (anticuerpo monoclonal IgG2 disponible a través de Pfizer, anteriormente conocido como ticilimumab, CP-675.206); e Ipilimumab (anticuerpo CTLA-4, también conocido como MDX-010, CAS No. 477202-00-9). En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra después del tratamiento, por ejemplo, después del tratamiento de un melanoma, con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab) con o sin un inhibidor de BRAF (por ejemplo, vemurafenib o dabrafenib). Los ejemplos de dosis que pueden usarse incluyen una dosis de molécula de anticuerpo anti-TIM-3 de aproximadamente 1 a 30 mg/kg, 1 a 20 mg/kg, o 1 a 10 mg/kg, por ejemplo, 3 mg/kg, y una dosis de un anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, ipilimumab, de aproximadamente 3 mg/kg.

En ciertas realizaciones, las moléculas del punto de control inmunitario, por ejemplo, PD-1, LAG-3, TIM-3, CEACAM-1/ CEACAM-5, pueden regular la función de las células T para promover el escape inmune tumoral. Por lo tanto, los anticuerpos anti-TIM-3 descritos en el presente documento pueden usarse en combinación con uno o más inhibidores de estas moléculas inhibidoras inmunitarias para mejorar una respuesta antitumoral. La combinación de anticuerpos citados en este documento puede administrarse por separado, por ejemplo, como anticuerpos separados, o enlazados, por ejemplo, como una molécula de anticuerpo biespecífica o triespecífica.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En aún otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 y un anticuerpo anti-PD-1, o fragmentos de unión a antígeno del mismo. En una realización, se administra un anticuerpo biespecífico que incluye una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y un anticuerpo anti-PD-1 o anti-TIM-3, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertas realizaciones, la combinación de anticuerpos citados en el presente documento se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un tumor sólido). La eficacia de las combinaciones mencionadas anteriormente se puede probar en modelos animales conocidos en la técnica. Por ejemplo, los modelos animales para probar el efecto de anti-PD-1 y anti-LAG-3 se describe, por ejemplo, en Woo et al., (2012) Cancer Res. 72 (4): 917-27).

En algunas realizaciones, los inhibidores de las moléculas TIM-3 y PD-1 (por ejemplo, moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 y anti-PD-1) se administran en combinación, por ejemplo, para tratar el cáncer. En algunas realizaciones, el sujeto es un paciente que ha progresado (por ejemplo, ha experimentado un crecimiento tumoral) durante la terapia con un inhibidor de PD-1 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo como se describe en el presente documento) y/o un inhibidor de PD-L1 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-PD-L1). En algunas realizaciones, se continúa la terapia con la molécula de anticuerpo PD-1 y/o la molécula de anticuerpo PD-L1, y se agrega una molécula inhibidora inmune TIM-3 (por ejemplo, anticuerpo) a la terapia.

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de CEACAM (por ejemplo, inhibidor de CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5). En una realización, el inhibidor de CEACAM es una molécula de anticuerpo anti-CEACAM. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de CEACAM-1, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-CEACAM-1. En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de CEACAM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-CEACAM-3. En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con un inhibidor de CEACAM-5, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-CEACAM-5. Los ejemplos de anticuerpos anti-CEACAM-1 se describen en los documentos WO 2010/125571, WO 2013/082366 y WO 2014/022332, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal 34B1, 26H7 y 5F4; o una forma recombinante de los mismos, como se describe, por ejemplo, en los documentos US 2004/0047858, US 7,132,255 y WO 99/052552. En otras realizaciones, el anticuerpo anti-CEACAM se une a CEACAM-5 como se describe, por ejemplo, en Zheng et al., PLoS One. 2 de septiembre de 2010; 5 (9). pii: e12529 (DOI: 10.1371/journal.pone.0021146), o reacciona en forma cruzada con CEACAM-1 y CEACAM-5 como se describe, por ejemplo, en los documentos WO 2013/054331 y US 2014/0271618.

Sin querer restringirse a ninguna teoría particular, se cree que las moléculas de adhesión celular del antígeno carcinoembrionario (CEACAM), tal como CEACAM-1 y CEACAM-5, median, al menos en parte, la inhibición de una respuesta inmune antitumoral (véase por ejemplo, Markel et al., J Immunol. 15 de marzo de 2002; 168 (6): 2803-10; Markel et al. J Immunol. 1 de noviembre de 2006; 177 (9): 6062-71; Markel et al., Immunology. Febrero de 2009; 126 (2): 186-200; Markel et al., Cancer Immunol Immunother. Febrero de 2010; 59 (2): 215-30; Ortenberg et al., Mol Cancer Ther. Junio de 2012; 11 (6): 1300-10; Stern et al., J Immunol. 1 de junio de 2005; 174 (11): 6692-701; Zheng et al. PLoS One. Septiembre 2 de 2010; 5 (9). Pii: e12529). Por ejemplo, CEACAM-1 se ha descrito como un ligando heterófilo para TIM-3 y desempeña un papel en la tolerancia y el agotamiento de las células T mediadas por TIM-3 (véase, por ejemplo, el documento WO 2014/022332; Huang, et al., (2014) Naturaleza doi: 10.1038/nature13848). En

realizaciones, se ha demostrado que el bloqueo conjunto de CEACAM-1 y TIM-3 mejora la respuesta inmune antitumoral en modelos de cáncer colorrectal de xenoinjerto (véase, por ejemplo, el documento WO 2014/022332; Huang, et al., (2014), citado más arriba). En otras realizaciones, el bloqueo conjunto de CEACAM-1 y PD-1 reduce la tolerancia de las células T como se describe, por ejemplo, en el documento WO 2014/059251. Por lo tanto, los

inhibidores de CEACAM pueden usarse con los otros inmunomoduladores descritos en el presente documento (por ejemplo, inhibidores anti-PD-1 y/o anti-TIM-3) para mejorar una respuesta inmunitaria contra un cáncer, por ejemplo, un melanoma, un cáncer de pulmón (por ejemplo, NSCLC), un cáncer de vejiga, un cáncer de colon, un cáncer de ovario y otros cánceres como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, las moléculas inhibidoras inmunitarias PD-1 y TIM-3 (por ejemplo, moléculas de anticuerpo) se administran en combinación entre sí, por ejemplo, para tratar el cáncer. En algunas realizaciones, el paciente es un paciente que progresó (por ejemplo, experimentó un crecimiento tumoral) durante la terapia con un inhibidor de PD-1 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo como se describe en el presente documento) y/o un inhibidor de PDL1 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo). En algunas realizaciones, se continúa la terapia con la molécula de anticuerpo PD-1 y/o la molécula de anticuerpo PDL1, y se agrega una molécula inhibidora inmune TIM-3 (por ejemplo, anticuerpo) a la terapia.

En algunas realizaciones, las moléculas inhibidoras inmunitarias TIM-3 y LAG-3 (por ejemplo, moléculas de anticuerpo) se administran en combinación entre sí, por ejemplo, para tratar el cáncer. En algunas realizaciones, el paciente es un paciente que progresó (por ejemplo, experimentó un crecimiento tumoral) durante la terapia con un inhibidor de TIM-3 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo como se describe en el presente documento) y/o un inhibidor de PD-1 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo). En algunas realizaciones, se continúa la terapia con la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y/o la molécula de anticuerpo PDL1, y se agrega a la terapia una molécula inhibidora inmune LAG-3 (por ejemplo, anticuerpo).

En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra en combinación con una citoquina, por ejemplo, interleuquina-21, interleuquina-2 o interleuquina-15. En ciertas realizaciones, la combinación de la molécula anticuerpo anti-TIM-3 y la citoquina descritas en este documento se usan para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en este documento (por ejemplo, un tumor sólido o melanoma).

Los ejemplos de inmunomoduladores que pueden usarse en combinación con moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, afutuzumab (disponible a través de Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimida (CC4047); y citoquinas, por ejemplo, IL-21 o IRX-2 (mezcla de citoquinas humanas que incluyen interleuquina 1, interleuquina 2 e interferón γ , CAS 951209-71-5, disponible a través de IRX Therapeutics).

En otras realizaciones más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con un inhibidor de la indolamina-pirrol 2,3-dioxigenasa (IDO) (por ejemplo, INCB24360) en un sujeto con cáncer avanzado o metastásico (por ejemplo, un paciente con cáncer metastásico y NSCL recurrente).

En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 se administran a un sujeto junto con (por ejemplo, antes, simultáneamente o después de) uno o más de: trasplante de médula ósea, terapia ablativa de células T usando agentes de quimioterapia tales como, fludarabina, radioterapia de haz externo (XRT), ciclofosfamida y/o anticuerpos como OKT3 o CAMPATH. En una realización, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 se administran después de una terapia ablativa de células B, tal como agentes que reaccionan con CD20, por ejemplo, Rituxan. Por ejemplo, en una realización, los sujetos pueden someterse a un tratamiento estándar con altas dosis de quimioterapia seguida de trasplante de células madre de sangre periférica. En ciertas realizaciones, después del trasplante, los sujetos reciben las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3. En una realización adicional, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 se administran antes o después de la cirugía.

Otro ejemplo de una combinación es un anticuerpo anti-TIM-3 en combinación con decarbazina para el tratamiento del melanoma. Sin querer restringirse a ninguna teoría particular, se cree que el uso combinado del bloqueo de TIM-3 y la quimioterapia se ve facilitado por la muerte celular, que es una consecuencia de la acción citotóxica de la mayoría de los compuestos quimioterapéuticos, que puede resultar en un aumento de los niveles de antígeno tumoral en la vía de presentación de antígeno. Otras terapias combinadas que pueden resultar en sinergia con el bloqueo de TIM-3 a través de la muerte celular son la radiación, la cirugía y la privación de hormonas. Cada uno de estos protocolos crea una fuente de antígeno tumoral en el huésped. Los inhibidores de la angiogénesis también pueden combinarse con el bloqueo de TIM-3. La inhibición de la angiogénesis conduce a la muerte de células tumorales que pueden alimentar al antígeno tumoral en las vías de presentación del antígeno del huésped.

Los anticuerpos bloqueadores de TIM-3 también pueden usarse en combinación con anticuerpos biespecíficos. Se pueden usar anticuerpos biespecíficos para atacar dos antígenos separados. Por ejemplo, se han utilizado anticuerpos biespecíficos receptor Fc/antígeno antitumoral (por ejemplo, Her-2/neu) para dirigir macrófagos a sitios del tumor. Este direccionamiento puede activar más eficazmente las respuestas específicas del tumor. El brazo de células T de estas respuestas se aumentaría mediante el uso del bloqueo de TIM-3. Alternativamente, el antígeno puede administrarse directamente a las DC mediante el uso de anticuerpos biespecíficos que se unen al antígeno tumoral y a un marcador de superficie celular específico de células dendríticas.

Los tumores evaden la vigilancia inmune del huésped mediante una gran variedad de mecanismos. Muchos de estos mecanismos pueden superarse mediante la inactivación de proteínas que son expresadas por los tumores y que son inmunosupresoras. Estos incluyen, pero no se limita a, TGF-beta (Kehrl, J. et al., (1986) J. Exp. Med. 163: 1037-1050), IL-10 (Howard, M. y O'Garra, A. (1992) Immunology Today 13: 198-200), y el ligando Fas (Hahne, M. et al., (1996) Science 274: 1363-1365). Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos para cada una de estas entidades se puede usar en combinación con moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 para contrarrestar los efectos del agente inmunosupresor y favorecer las respuestas inmunes del tumor por parte del huésped.

Otros anticuerpos que pueden usarse para activar la capacidad de respuesta inmune del huésped pueden usarse en combinación con moléculas de anticuerpo anti-TIM-3. Estas incluyen moléculas en la superficie de las células dendríticas que activan la función de DC y la presentación de antígenos. Los anticuerpos anti-CD40 pueden sustituir de manera efectiva la actividad auxiliar de las células T (Ridge, J. et al., (1998) Nature 393: 474-478) y pueden usarse junto con los anticuerpos PD-1 (Ito, N. et al., (2000) Immunobiology 201 (5) 527-40). Los anticuerpos contra moléculas coestimuladoras de células T, tal como CTLA-4 (por ejemplo, Patente de Estados Unidos No. 5,811,097), OX-40 (Weinberg, A. et al., (2000) Immunol 164: 2160-2169), 4-1BB (Melero, I. et al., (1997) Nature Medicine 3: 682-685 (1997), e ICOS (Hutloff, A. et al., (1999) Nature 397: 262-266) también pueden proporcionar niveles elevados de activación de células T.

Ejemplos adicionales estándar de tratamientos de cuidado se describen en la sección titulada "Terapias de combinación" más adelante.

En todos los métodos descritos en el presente documento, el bloqueo de TIM-3 se puede combinar con otras formas de inmunoterapia, tales como el tratamiento con citoquinas (por ejemplo, interferones, GM-CSF, G-CSF, IL-2, IL-21), o terapia de anticuerpos biespecíficos, que proporciona una presentación mejorada de antígenos tumorales (véase, por ejemplo, Holliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 90: 6444-6448; Poljak (1994) Structure 2: 1121-1123).

Los métodos de administración de las moléculas de anticuerpo son conocidos en la técnica y se describen a continuación. Las dosis adecuadas de las moléculas utilizadas dependerán de la edad y el peso del sujeto y del fármaco particular utilizado. Un experto en la técnica puede determinar las dosis y los regímenes terapéuticos de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra por inyección (por ejemplo, por vía subcutánea o intravenosa) a una dosis de aproximadamente 1 a 30 mg/kg, por ejemplo, aproximadamente 5 a 25 mg/kg, aproximadamente 10 a 20 mg/kg, aproximadamente 1 a 5 mg/kg, o aproximadamente 3 mg/kg. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra a una dosis de aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg o aproximadamente de 30 mg/kg. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra a una dosis de aproximadamente 1-3 mg/kg, aproximadamente 3-10 mg/kg, aproximadamente 3-15 mg/kg, aproximadamente 10-15 mg/kg, aproximadamente 10-20 mg/kg, aproximadamente 10-25 mg/kg, o aproximadamente 20-30 mg/kg. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra a una dosis de aproximadamente 0.5-2, 2-4, 2-5 o 5-15 mg/kg. El esquema de dosificación puede variar desde, por ejemplo, una vez a la semana o una vez cada 2, 3 o 4 semanas. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra a una dosis de aproximadamente 10 a 20 mg/kg cada dos semanas.

Las moléculas de anticuerpo pueden usarse por sí mismas o conjugarse con un segundo agente, por ejemplo, un fármaco citotóxico, radioisótopo o una proteína, por ejemplo, una toxina proteica o una proteína viral. Este método incluye: administrar la molécula de anticuerpo, sola o conjugada con un fármaco citotóxico, a un sujeto que requiera tal tratamiento. Las moléculas de anticuerpo pueden usarse para administrar una variedad de agentes terapéuticos, por ejemplo, una fracción citotóxica, por ejemplo, un fármaco terapéutico, un radioisótopo, moléculas de origen vegetal, fúngico o bacteriano, o proteínas biológicas (por ejemplo, toxinas proteicas) o partículas (por ejemplo, partículas virales recombinantes, por ejemplo, a través de una proteína de cubierta viral), o mezclas de las mismas.

Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 también pueden combinarse con tratamientos estándar contra el cáncer. Por ejemplo, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden combinarse eficazmente con regímenes quimioterapéuticos. En estos casos, puede ser posible reducir la dosis del reactivo quimioterapéutico administrado (Mokyr, M. et al., (1998) Cancer Research 58: 5301-5304). Un ejemplo de tal combinación es una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 en combinación con decarbazina para el tratamiento del melanoma. Otro ejemplo de dicha combinación es una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 en combinación con interleuquina-2 (IL-2) para el tratamiento del melanoma. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede combinar con IL-21. Sin querer restringirse a ninguna teoría particular, una razón científica detrás del uso combinado de la terapia de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y la quimioterapia es que la muerte celular, que es una consecuencia de la acción citotóxica de la mayoría de los compuestos quimioterapéuticos, debería resultar en un aumento de los niveles del antígeno tumoral en la vía de presentación de antígeno. Otras terapias de combinación que pueden resultar en sinergia con la terapia de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 a través de la muerte celular son la radiación, la cirugía y la privación de hormonas. Cada uno de estos protocolos crea una fuente de antígeno tumoral en el huésped. Los inhibidores de la angiogénesis también pueden combinarse con la terapia con moléculas de anticuerpo anti-TIM-3. La inhibición de la angiogénesis conduce a la muerte de células tumorales que pueden alimentar al antígeno tumoral en las vías de presentación del antígeno del huésped. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 también se pueden usar en combinación con anticuerpos biespecíficos. Se pueden usar anticuerpos biespecíficos para atacar dos antígenos separados. Por

ejemplo, se han utilizado anticuerpos biespecíficos del receptor anti-Fc/antígeno antitumoral (por ejemplo, Her-2/neu) para dirigir macrófagos a sitios del tumor. Este direccionamiento puede activar más eficazmente las respuestas específicas del tumor. El brazo de células T de estas respuestas se aumentaría mediante el uso de moléculas de anticuerpo anti-TIM-3. Alternativamente, el antígeno puede administrarse directamente a las DC mediante el uso de anticuerpos biespecíficos que se unen al antígeno del tumor y a un marcador de superficie celular específico de células dendríticas.

Los tumores evaden la vigilancia inmunitaria del huésped mediante una gran variedad de mecanismos. Muchos de estos mecanismos pueden superarse mediante la inactivación de proteínas que son expresadas por los tumores y que son inmunosupresoras. Estos incluyen, pero no se limita a, TGF-beta (Kehrl, J. et al., (1986) J. Exp. Med. 163: 1037-1050), IL-10 (Howard, M. y O'Garra, A. (1992) Immunology Today 13: 198-200), y ligando Fas (Hahne, M. et al., (1996) Science 274: 1363-1365). Los anticuerpos para cada una de estas entidades pueden usarse en combinación con moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 para contrarrestar los efectos del agente inmunosupresor y favorecer las respuestas inmunes del tumor por parte del huésped.

Otros anticuerpos que pueden usarse para activar la capacidad de respuesta inmune del huésped pueden usarse en combinación con moléculas de anticuerpo anti-TIM-3. Estas incluyen moléculas en la superficie de las células dendríticas que activan la función de DC y la presentación de antígenos. Los anticuerpos anti-CD40 pueden sustituir eficazmente la actividad auxiliar de las células T (Ridge, J. et al., (1998) Nature 393: 474-478) y se pueden usar junto con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 (véase Ito, N. et al., (2000) Immunobiology 201 (5) 527-40). La activación de anticuerpos contra moléculas coestimuladoras de células T, tales como CTLA-4 (por ejemplo, patente de Estados Unidos No. 5,811,097), OX-40 (Weinberg, A. et al., (2000) Immunol 164: 2160-2169), 4-1BB (Melero, I. et al., (1997) Nature Medicine 3: 682-685 (1997), e ICOS (Hutloff, A. et al., (1999) Nature 397: 262-266) también pueden proporcionar un aumento de los niveles de activación de células T.

Terapias de combinación adicionales

La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede usar en combinación con otras terapias. Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir una composición de la presente divulgación formulada conjuntamente y/o administrada conjuntamente con uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, uno o más agentes anticancerosos, agentes citotóxicos o citostáticos, tratamientos hormonales, vacunas y/u otras inmunoterapias. En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo se administran en combinación con otras modalidades de tratamiento terapéutico, que incluyen cirugía, radiación, criocirugía y/o termoterapia. Dichas terapias de combinación pueden utilizar ventajosamente dosis más bajas de los agentes terapéuticos administrados, evitando así posibles toxicidades o complicaciones asociadas con las diversas monoterapias.

Por "en combinación con", no se pretende implicar que la terapia o los agentes terapéuticos deben administrarse al mismo tiempo y/o formularse para la administración conjunta, aunque estos métodos de administración están dentro del alcance descrito en el presente documento. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden administrarse simultáneamente, antes o después de una o más de otras terapias adicionales o agentes terapéuticos. La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y el otro agente o protocolo terapéutico se pueden administrar en cualquier orden. En general, cada agente se administrará en una dosis y/o en un cronograma determinado para ese agente. Se apreciará adicionalmente que el compuesto terapéutico adicional utilizado en esta combinación puede administrarse conjuntamente en una única composición o administrarse por separado en diferentes composiciones. En general, se espera que los agentes terapéuticos adicionales utilizados en combinación se utilicen a niveles que no excedan los niveles en los que se utilizan individualmente. En algunas realizaciones, los niveles utilizados en combinación serán más bajos que los utilizados individualmente.

En ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento se administran en combinación con uno o más inhibidores de TIM-3 u otras moléculas de punto de control inmunitario, por ejemplo, PD-1, PD-L1, PD-L2, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 o CEACAM-5), o LAG-3.

En ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento se administran en combinación con uno o más de otros inhibidores de PD-1, PD-L1 y/o PD-L2 conocidos en la técnica. El antagonista puede ser un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión u oligopéptido. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 se elige entre MDX-1106, Merck 3475 o CT-011. En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1 es una inmunoadhesina (por ejemplo, una inmunoadhesina que comprende una porción extracelular o de unión a PD-1) de PD-L1 o PD-L2 fusionada a una región constante (por ejemplo, una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina). En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1 es AMP-224. En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En algunas realizaciones, el antagonista de unión anti-PD-L1 se elige entre YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, o MDX-1105. MDX-1105, también se conoce como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-L1 descrito en el documento WO 2007/005874. El anticuerpo YW243.55.S70 (secuencias de la región variable de la cadena pesada y ligera mostradas en las SEQ ID Nos. 20 y 21, respectivamente) es un anti-PD L1 descrito en el documento WO 2010/077634.

MDX-1106, también conocido como MDX-1106-04, ONO-4538 o BMS-936558, es un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el documento WO 2006/121168. Merck 3745, también conocido como MK-3475 o SCH-900475, es un anticuerpo anti-

PD-1 descrito en el documento WO 2009/114335. Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) es un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se une a PD-1. Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados se describen en el documento WO 2009/101611. En otras realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. El pembrolizumab (nombre comercial Keytruda anteriormente lambrolizumab, también conocido como MK-3475) se describe, por ejemplo, en Hamid, O. et al., (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-44. AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; por ejemplo, descrito en los documentos WO 2010/027827 y WO 2011/066342), es un receptor soluble de fusión PD-L2 Fc que bloquea la interacción entre PD-1 y B7-H1. Otros anticuerpos anti-PD-1 incluyen AMP 514 (Amplimmune), pero no se limita a, por ejemplo, anticuerpos anti-PD-1 descritos en los documentos US 8,609,089, US 2010028330 y/o US 20120114649.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es MDX-1106. Los nombres alternativos para MDX-1106 incluyen MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 o Nivolumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es Nivolumab (Número de registro CAS: 946414-94-4). Nivolumab (también conocido como BMS-936558 o MDX1106; Bristol-Myers Squibb) es un anticuerpo monoclonal IgG4 completamente humano que bloquea específicamente el PD-1. Nivolumab (clon 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se describen en los documentos US 8,008,449 y WO 2006/121168. Pembrolizumab (nombre comercial Keytruda anteriormente lambrolizumab, también conocido como MK-3475; Merck) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado que se une a PD-1. Lambrolizumab y otros anticuerpos anti-PD-1 humanizados se describen en los documentos US 8,354,509 y WO 2009/114335. MDPL3280A (Genentech/Roche) es un anticuerpo monoclonal IgG1 optimizado para Fc humano que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos para PD-L1 se describen en la patente de Estados Unidos No.: 7,943,743 y en la publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos No.: 20120039906. Otros agentes de unión anti-PD-L1 incluyen YW243.55.S70 (las regiones variables de las cadenas pesada y ligera se muestran en las SEQ ID NOs 20 y 21 en el documento WO 2010/077634) y MDX-1105 (también denominadas BMS-936559, y por ejemplo, agentes de unión anti-PD-L1 descritos en el documento WO 2007/005874).

Terapias contra el cáncer

Los ejemplos de combinaciones de moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 (solas o en combinación con otros agentes estimulantes) y el tratamiento estándar para el cáncer incluyen al menos lo siguiente. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en este documento, se usa en combinación con un estándar de agente quimioterapéutico para el tratamiento del cáncer que incluye, pero no se limita a, anastrozol (Arimidex®), bicalutamida (Casodex®), sulfato de bleomicina (Blenoxane®), busulfan (Myleran®), inyección de busulfano (Busulfex®), capecitabina (Xeloda®), N4-pentoxicarbonil-5-desoxi-5-fluorocitidina, carboplatino (Paraplatin®), carmustina (BiCNU®), clorambucilo (Leukeran®), cisplatino (Platinol®), cladribina (Leustatin®), ciclofosfamida (Cytoxan® o Neosar®), citarabina, citosina arabinósido (Cytosar-U®), inyección del liposoma citarabina DepoCyt®, dacarbazina (DTIC-Dome®), dactinomicina (Actinomycin D, Cosmegen), clorhidrato de daunorrubicina (Cerubidine®), inyección de liposoma de citrato de daunorrubicina (DaunoXome®), dexametasona, docetaxel (Taxotere®), clorhidrato de doxorrubicina (Adriamycin®, Rubex®), etopósido (Vepesid®), fosfato de fludarabina (Fludara®), 5-fluorouracilo (Aduvex®, Efudex®), flutamida (Eulexin®), tezacicitabina, Gemcitabina (difluorodeoxicitidina), hidroxiurea (Hydrea®), Idarubicina (Idamycin®), ifosfamida (IFEX®), irinotecano (Camptosar®), L-asparaginasa (ELSPAR®), leucovorina cálcica, melfalan (Alkeran®), 6-mercaptopurina (Purinethol®), metotrexato (Folex®), mitoxantrona (Novantrone®), mylotarg, paclitaxel (Taxol®), fénix (Itrio90/MX-DTPA), pentostatina, polifeprosan 20

con implante de carmustina (Gliadel®), citrato de tamoxifeno (Nolvadex®), tenipósido (Vumon®), 6-tioguanina, tiotepa, tirapazamina (Tirazone®), clorhidrato de topotecano para inyección (Hycamptin®), vinblastina (Velban®), vincristina (Oncovin®), y vinorelbina (Navelbine®), Ibrutinib, idelalisib, y brentuximab vedotina.

Ejemplos de agentes de alquilación incluyen, sin limitación, mostazas nitrogenadas, derivados de etilenimina, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas y triazenos: mostaza de uracilo (Aminouracil Mustard®, Chlorethaminacil®, Demethylodopan®, Desemethylodopan®, Haemanthamine®, Nordopan®, Uracil nitrogen mustard®, Uracillost®, Uracilmostaza®, Uramustin®, Uramustine®), clormetina (Mustargen®), ciclofosfamida (Cytoxan®, Neosar®, Clafen®, Endoxan®, Procytox®, Revimmune^{MR}), ifosfamida (Mitoxana®), melfalan (Alkeran®), Clorambucilo (Leukeran®), pipobromano (Amedel®, Vercyte®), trietilenmelamina (Hemel®, Hexalen®, Hexastat®), trietilentioposforamina, Temozolomida (Temodar®), tiotepa (Thiopex®, busulfano (Busilvex®, Myleran®), carmustina (BiCNU®), lomustina (CeeNU®), estreptozocina (Zanosar®), y Dacarbazina (DTIC-Dome®). Ejemplos adicionales de agentes alquilantes incluyen, sin limitación, oxaliplatino (Eloxatin®); Temozolomida (Temodar® y Temodal®); Dactinomicina (también conocida como actinomicina-D, Cosmegen®); Melfalan (también conocida como L-PAM, L-sarcolisina, y mostaza de fenilalanina, Alkeran®); Altretamina (también conocida como hexametilmelamina (HMM), Hexalen®); Carmustina (BiCNU®); Bendamustina (Treanda®); busulfano (Busulfex® y Myleran®); Carboplatino (Paraplatin®); Lomustina (también conocida como CCNU, CeeNU®); Cisplatino (también conocido como CDDP, Platinol® y Platinol®-AQ); Clorambucilo (Leukeran®); Ciclofosfamida (Cytoxan® y Neosar®); Dacarbazina (también conocida como DTIC, DIC e imidazol carboxamida, DTIC-Dome®); Altretamina (también conocida como hexametilmelamina (HMM), Hexalen®); Ifosfamida (ifex®); Prednumustina; Procarbrazina (Matulane®); Mecloretamina (también conocido como mostaza nitrogenada, mustina y clorhidrato de mecloroetamina, Mustargen®); Estreptozocina (Zanosar®); Tiotepa (también conocida como tiofosfamida, TSPA y TSPA, Thiopex®); Ciclofosfamida (Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune®); y bendamustina HCl (Treanda®).

Ejemplos de antraciclinas incluyen, por ejemplo, doxorubicina (Adriamycin® y Rubex®); bleomicina (lenoxane®); daunorrubicina (clorhidrato de daunorrubicina, daunomicina y clorhidrato de rubidomicina, Cerubidine®); daunorrubicina liposomal (liposoma de citrato de daunorrubicina, DaunoXome®); mitoxantrona (DHAD, Novantrone®); epirubicina (Ellence^{MR}); idarrubicina (Idamycin®, Idamycin PFS®); mitomicina C (Mutamycin®); geldanamicina; herbimicina; ravidomicina; y desacetilravidomicina.

Ejemplos de alcaloides de la vinca que se pueden usar en combinación con las moléculas del anticuerpo anti-TIM-3, solos o en combinación con otros inmunomoduladores (por ejemplo, un anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1) incluyen pero no se limitan a, tartrato de vinorelbina (Navelbine®), Vincristina (Oncovin®) y Vindesina (Eldisine®); vinblastina (también conocida como sulfato de vinblastina, vincalcukoblastina y VLB, Alkaban-AQ® y Velban®); y vinorelbina (Navelbine®).

Los ejemplos de Inhibidores de proteosoma que pueden usarse en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-PD-1, solas o en combinación con otros inmunomoduladores (por ejemplo, una molécula de anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-TIM-3, incluyen, pero no se limitan a, bortezomib (Velcade®); carfilzomib (PX-171-007, (S)-4-metil-N-((S)-1-((S)-4-metil-1-((R)-2-metiloxiran-2-il)-1-oxopentan-2-il)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)-2-((S)-2-(2-morfolinoacetamido)-4-fenil butanamido)-pentanamida); marizomib (NPI-0052); citrato de ixazomib (MLN-9708); delanterozomib (CEP-18770); y O-metil-N-[(2-metil-5-tiazolil)carbonil]-L-seril-O-metil-N-[(1S)-2-[(2R)-2-metil-2-oxiranil]-2-oxo-1-(fenilmetil)etil]-L-serinamida (ONX-0912).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento, se usa sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti PD-1 o anti-PD-L1), en combinación con un inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, un inhibidor del receptor de tirosina quinasa (RTK)). Ejemplos del inhibidor de tirosina quinasa incluyen, pero no se limitan a, un inhibidor de la vía del factor de crecimiento epidérmico (EGF) (por ejemplo, un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)), un inhibidor de la vía del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (por ejemplo, un inhibidor del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) (por ejemplo, un inhibidor de VEGFR-1, un inhibidor de VEGFR-2, un inhibidor de VEGFR-3)), un inhibidor de la vía del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) (por ejemplo, un inhibidor del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR) (por ejemplo, un inhibidor de PDGFR-β), un inhibidor de RAF-1, un inhibidor de KIT y un inhibidor de RET. En algunas realizaciones, el agente contra el cáncer usado en combinación con el inhibidor de erizo se selecciona del grupo que consiste en: axitinib (AG013736), bosutinib (SKI-606), cediranib (RECENTIN^{MR}, AZD2171), dasatinib (SPRYCEL®, BMS-354825), erlotinib (TARCEVA®), gefitinib (IRESSA®), imatinib (Gleevec®, CGP57148B, STI-571), lapatinib (TYKERB®, TYVERB®), lestaurtinib (CEP-701), neratinib (HKI-272), nilotinib (TASIGNA®), semaxanib (semaxinib, SU5416), sunitinib (SUTENT®, SU11248), toceranib (PALLADIA®), vandetanib (ZACTIMA®, ZD6474), vatalanib (PTK787, PTK/ZK), trastuzumab (HERCEPTIN®), bevacizumab (AVASTIN®), rituximab (RITUXAN®), cetuximab (ERBITUX®), panitumumab (VECTIBIX®), ranibizumab (Lucentis®), nilotinib (TASIGNA®), sorafenib (NEXAVAR®), alemtuzumab (CAMPATH®), gemtuzumab ozogamicina (MYLOTARG®), ENMD-2076, PCI-32765, AC220, lactato de dovitinib (TKI258, CHIR-258), BIBW 2992 (TOVOK^{MR}), SGX523, PF-04217903, PF-02341066, PF-299804, BMS-777607, ABT-869, MP470, BIBF 1120 (VARGATEF®), AP24534, JNJ-26483327, MGCD265, DCC-2036, BMS-690154, CEP-11981, tivozanib (AV-951), OSI-930, MM-121, XL-184, XL-647, XL228, AEE788, AG-490, AST-6, BMS-599626, CUDC-101, PD153035, pelitinib (EKB-569), vandetanib (zactima), WZ3146, WZ4002, WZ8040, ABT-869 (linifanib), AEE788, AP24534 (ponatinib), AV-951 (tivozanib), axitinib, BAY 73-4506 (regorafenib), alaninato de brivanib (BMS-582664), brivanib (BMS-540215), cediranib (AZD2171), CHIR-258 (dovitinib), CP 673451, CYC116, E7080, Ki8751, masitinib (AB1010), MGCD-265, difosfato de motesanib (AMG-706), MP-470, OSI-930, clorhidrato de Pazopanib, PD173074, Tosilato de Sorafenib (Bay 43-9006), SU 5402, TSU-68(SU6668), vatalanib, XL880 (GSK1363089, EXEL-2880). Los inhibidores de tirosina quinasa seleccionados se seleccionan de sunitinib, erlotinib, gefitinib, o sorafenib.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento, se utiliza sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti -PD-1 o anti-PD-L1), en combinación con inhibidores del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que incluyen, pero no se limitan a, Bevacizumab (Avastin®), axitinib (Inlyta®), alaninato de Brivanib (BMS-582664, (S)-((R)-1-(4-(4-Fluoro-2-metil-1H-indol-5-iloxi)-5-metilpirrolo[2,1-f] [1,2,4]triazin-6-iloxi)propan-2-il)2-aminopropanoato); Sorafenib (Nexavar®); Pazopanib (Votrient®); Malato de sunitinib (Sutent®); Cediranib (AZD2171, CAS 288383-20-1); Vargatef (BIBF1120, CAS 928326-83-4); Foretinib (GSK1363089); Telatinib (BAY57-9352, CAS 332012-40-5); Apatinib (YN968D1, CAS 811803-05-1); Imatinib (Gleevec®); Ponatinib (AP24534, CAS 943319-70-8); Tivozanib (AV951, CAS 475108-18-0); Regorafenib (BAY73-4506, CAS 755037-03-7); Diclorhidrato de vatalanib (PTK787, CAS 212141-51-0); Brivanib (BMS-540215, CAS 649735-46-6); Vandetanib (Caprelsa® o AZD6474); Difosfato de motesanib (AMG706, CAS 857876-30-3, N-(2,3-dihidro-3,3-dimetil-1H-indol-6-il)-2-[(4-piridinilmetil)amino]-3-piridincarboxamida, descrito en la publicación PCT No. WO 02/066470); ácido dilactico dovitinib (TKI258, CAS 852433-84-2); Linfanib (ABT869, CAS 796967-16-3); Cabozantinib (XL184, CAS 849217-68-1); Lestaurtinib (CAS 111358-88-4); N-[5-[[[5-(1,1-Dimetiletil)-2-oxazolil]metil]tio]-2-tiazolil]-4-piperidincarboxamida (BMS38703, CAS 345627-80-7); (3R,4R)-4-amino-1-((4-(3-metoxifenil)amino)pirrolo[2,1-f] [1,2,4]triazin-5-il)metil) piperidin-3-ol (BMS690514); N-(3,4-Dicloro-2-fluorofenil)-6-metoxi-7-[(3aa, 5β, 6aa)-octahidro-2-metiliclopenta[c]pirrol-5-il]metoxi]-4-quinazolinamina (XL647, CAS 781613-23-

8); 4-metil-3-[[1-metil-6-(3-piridinil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il]amino]-N-[3-(trifluorometil)fenil]-benzamida (BHG712, CAS 940310-85-0); y Aflibercept (Eylea®).

Los ejemplos de anticuerpos anti-VEGF incluyen, pero no se limitan a, un anticuerpo monoclonal que se une al mismo epítipo que el anticuerpo monoclonal anti-VEGF A4.6.1 producido por el hibridoma ATCC HB 10709; un anticuerpo monoclonal anti-VEGF humanizado recombinante generado de acuerdo con Presta et al., (1997) Cancer Res. 57: 4593-4599. En una realización, el anticuerpo anti-VEGF es Bevacizumab (BV), también conocido como rhuMab VEGF o AVASTIN®. Comprende regiones marco de IgG1 humana mutadas y regiones determinantes de complementariedad de unión a antígeno del anticuerpo monoclonal anti-hVEGF murino A.4.6.1 que bloquea la unión de VEGF humano a sus receptores. Bevacizumab y otros anticuerpos anti-VEGF humanizados se describen adicionalmente en la patente de Estados Unidos No. 6,884,879 publicada el 26 de febrero de 2005. Los anticuerpos adicionales incluyen los anticuerpos de la serie G6 o B20 (por ejemplo, G6-31, B20-4.1), como se describe en la publicación PCT No. WO 2005/012359, publicación PCT No. WO 2005/044853. Para anticuerpos adicionales véanse las patentes de Estados Unidos Nos. 7,060,269, 6,582,959, 6,703,020, 6,054,297, los documentos WO 98/45332, WO 96/30046, WO 94/10202, EP 0666868B1, la publicación de las solicitudes de patente de los Estados Unidos Nos. 2006009360, 20050186208, 20030206899, 20030190317, 20030203409, y 20050112126; y Popkov et al., Journal of Immunological Methods 288: 149-164 (2004). Otros anticuerpos incluyen aquellos que se unen a un epítipo funcional en VEGF humano que comprende los residuos F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, 191, K101, E103 y C104 o, alternativamente, que comprenden los residuos F17, Y21, Q22, Y25, D63, 183 y Q89.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en este documento, se usa sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), en combinación con el inhibidor de PI3K. En una realización, el inhibidor de PI3K es un inhibidor de las isoformas delta y gamma de PI3K. Los ejemplos de inhibidores de PI3K que pueden usarse en combinación se describen, por ejemplo, en los documentos WO 2010/036380, WO 2010/006086, WO 09/114870, WO 05/113556, GSK 2126458, GDC-0980, GDC-0941, Sanofi XL147, XL756, XL147, PF-46915032, BKM 120, CAL-101, CAL 263, SF1126, PX-886 y un inhibidor de PI3K dual (por ejemplo, Novartis BEZ235).

En algunas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento se usan solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), en combinación con un inhibidor de mTOR, por ejemplo, uno o más inhibidores de mTOR elegidos entre uno o más de rapamicina, temsirolimus (TORISEL®), AZD8055, BEZ235, BGT226, XL765, PF-4691502, GDC0980, SF1126, OSI-027, GSK1059615, KU-0063794, WYE-354, Palomid 529 (P529), PF-04691502 o PKI-587; ridaforolimus (formalmente conocido como deferolimus, dimetilfosfinato de (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E, 28Z,30S,32S,35R)-1,18-dihidroxi-19,30-dimetoxi-15,17,21,23,29,35-hexametil-2,3,10,14,20-pentaoxo-11,36-dioxa-4-aza tricyclo[30.3.1.0^{4,9}]hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-12-il]propil]-2-metoxiciclohexilo, también conocido como AP23573 y MK8669, y se describe en la publicación PCT No. WO 03/064383); everolimus (Afinitor® o RAD001); rapamicina (AY22989, Sirolimus®); simapimod (CAS 164301-51-3); emsirolimus, (5-{2,4-Bis[(3S)-3-metilmorfolin-4-il]pirido[2,3-d] pirimidin-7-il}-2-metoxifenil)metanol (AZD8055); 2-amino-8-[trans-4-(2-hidroxietoxi)ciclohexil]-6-(6-metoxi-3-piridinil)-4-metil-pirido[2,3-d]pirimidin-7(8H)-ona (PF04691502, CAS 1013101-36-4); y N²-[1,4-dioxo-4-[[4-(4-oxo-8-fenil-4H-1-benzopiran-2-il) morfolinio-4-il]metoxi]butil]-L-arginilglicil-L-α-aspartil-L-serina-, sal interna (SF1126, CAS 936487-67-1) y XL765.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento, se usa sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), en combinación con un inhibidor de BRAF, por ejemplo, GSK2118436, RG7204, PLX4032, GDC-0879, PLX4720 y tosilato de sorafenib (Bay 43-9006).

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en el presente documento, se usa sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), en combinación con un inhibidor de MEK. En algunas realizaciones, la combinación del anticuerpo anti-TIM-3 y el inhibidor de MEK se usa para tratar un cáncer (por ejemplo, un cáncer descrito en el presente documento). En algunas realizaciones, el cáncer tratado con la combinación se elige entre un melanoma, un cáncer colorrectal, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer de ovario, un cáncer de mama, un cáncer de próstata, un cáncer de páncreas, una enfermedad maligna hematológica o un carcinoma de células renales. En ciertas realizaciones, el cáncer incluye una mutación de BRAF (por ejemplo, una mutación de BRAF V600E), un BRAF tipo silvestre, un KRAS tipo silvestre o una activación de la mutación KRAS. El cáncer puede estar en una etapa temprana, intermedia o tardía. Se puede usar cualquier inhibidor de MEK en combinación, incluyendo, pero sin limitarse a, ARRY-142886, G02442104 (también conocido como GSK1120212), RDEA436, RDEA119/BAY 869766, AS703026, G00039805 (también conocida como AZD-6244 o selumetinib), BIX 02188, BIX 02189, CI-1040 (PD-184352), PD0325901, PD98059, U0126, GDC-0973 (Metanona, [3,4-difluoro-2-[(2-fluoro-4-yodofenil)amino]fenil][3-hidroxi-3-(25)-2-piperidinil-1-azetidil]), G-38963, G02443714 (también conocido como AS703206), o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos. Ejemplos adicionales de inhibidores de MEK se describen en los documentos WO 2013/019906, WO 03/077914, WO 2005/121142, WO 2007/04415, WO 2008/024725 y WO 2009/085983.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 descrita en este documento, se usa sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), en combinación con un inhibidor de JAK2, por ejemplo, CEP-701, INCB18424, CP-690550 (tasocitinib).

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en el presente documento se usa, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), en combinación con paclitaxel o un agente de paclitaxel, por ejemplo, TAXOL®, paclitaxel unido a proteínas (por ejemplo, ABRAXANE®). Los ejemplos de agentes de paclitaxel incluyen, pero no se limitan a, paclitaxel unido a nanopartículas de albúmina (ABRAXANE, comercializado por Abraxis Bioscience), paclitaxel unido al ácido docosahexaenoico (DHA-paclitaxel, Taxoprexina, comercializado por Protarga), paclitaxel unido a poliglutamato (PG-paclitaxel, paclitaxel poliglumex, CT-2103, XYOTAX, comercializado por Cell Therapeutic), el profármaco activado por tumor (TAP), ANG105 (Angiopep-2 unido a tres moléculas de paclitaxel, comercializado por ImmunoGen), paclitaxel-EC-1 (paclitaxel unido al péptido EC-1 que reconoce erbB2; véase Li et al., Biopolymers (2007) 87: 225-230), y paclitaxel conjugado con glucosa (por ejemplo, 2-glucopiranosil succinato de 2'-paclitaxel metilo, véase Liu et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2007) 17: 617-620).

La radioterapia puede administrarse a través de uno de varios métodos, o una combinación de métodos, que incluyen, sin limitación, terapia con haz externo, radioterapia interna, radiación con implantes, radiocirugía estereotáctica, radioterapia sistémica, radioterapia y braquiterapia intersticial permanente o temporal. El término "braquiterapia" se refiere a la radioterapia administrada por un material radioactivo espacialmente confinado insertado en el cuerpo en o cerca de un tumor u otro sitio de enfermedad de tejido proliferativo. El término pretende incluir sin limitación la exposición a isótopos radiactivos (por ejemplo, At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32, e isótopos radiactivos de Lu). Las fuentes de radiación adecuadas para uso como acondicionador celular de la presente descripción incluyen tanto sólidos como líquidos. A modo de ejemplo no limitativo, la fuente de radiación puede ser un radionúclido, tal como I-125, I-131, Yb-169, Ir-192 como una fuente sólida, I-125 como una fuente sólida u otros radionúclidos que emite fotones, partículas beta, radiación gamma u otros rayos terapéuticos. El material radioactivo también puede ser un fluido hecho de cualquier solución de radionúclido o radionúclidos, por ejemplo, una solución de I-125 o I-131, o se puede producir un fluido radioactivo usando una suspensión de un fluido adecuado que contiene partículas pequeñas de radionúclidos sólidos, tales como Au-198, Y-90. Además, el radionúclido o radionúclidos se pueden incluir en un gel o microesferas radioactivas.

Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), pueden administrarse en combinación con una o más de las modalidades existentes para tratar cánceres, que incluyen, pero sin limitarse a: cirugía; radioterapia (por ejemplo, terapia con haz externo que consiste en radioterapia conformacional tridimensional donde el campo de radiación está diseñada, radiación local (por ejemplo, radiación dirigida a un objetivo u órgano preseleccionado), o radiación enfocada). La radiación enfocada se puede seleccionar del grupo que consiste en radiocirugía estereotáctica, radiocirugía estereotáctica fraccionada y radioterapia de intensidad modulada. La radiación enfocada puede tener una fuente de radiación seleccionada del grupo que consiste en un haz de partículas (protones), cobalto-60 (fotones) y un acelerador lineal (rayos X), por ejemplo, como se describe en el documento WO 2012/177624.

En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), se administra en combinación con un anticuerpo contra receptores similares a inmunoglobulina de células asesinas (también denominado en el presente documento "anticuerpo anti-KIR"), un anticuerpo pan-KIR o un anticuerpo anti-NKG2D, y un anticuerpo anti-MICA. En ciertas realizaciones, la combinación de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y el anticuerpo anti-KIR, el anticuerpo pan-KIR o un anticuerpo anti-NKG2D descritos en el presente documento se usan para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un tumor sólido, por ejemplo, un tumor sólido avanzado).

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), se administra en combinación con una inmunoterapia celular (por ejemplo, Provenge (por ejemplo, Sipuleucel)), y opcionalmente en combinación con ciclofosfamida. En ciertas realizaciones, la combinación de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3, Provenge y/o ciclofosfamida se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un cáncer de próstata, por ejemplo, un cáncer de próstata avanzado).

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), se administra en combinación con una vacuna, por ejemplo, una vacuna contra el carcinoma renal de células dendríticas (DC-RCC). En ciertas realizaciones, la combinación de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y la vacuna DC-RCC se usa para tratar un cáncer, por ejemplo, un cáncer como se describe en el presente documento (por ejemplo, un carcinoma renal, por ejemplo, carcinoma de células renales metastásico (RCC) o carcinoma de células renales de células claras (RCCC)).

En otra realización más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), es administrado en combinación con

quimioterapia y/o inmunoterapia. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede usar para tratar un mieloma, solo o en combinación con uno o más de: quimioterapia u otros agentes anticancerosos (por ejemplo, análogos de la talidomida, por ejemplo, lenalidomida), un anticuerpo anti-PD-1, células dendríticas pulsadas con antígeno tumoral, fusiones (por ejemplo, electrofusiones) de células tumorales y células dendríticas, o vacunación con idiотipo de inmunoglobulina producida por células plasmáticas malignas. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para tratar un mieloma, por ejemplo, un mieloma múltiple.

En una realización, se usa la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1) en combinación con quimioterapia para tratar un cáncer de pulmón, por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se usa con la terapia de doblete de platino para tratar el cáncer de pulmón.

En otra realización más, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), es utilizado para tratar un cáncer renal, por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC) (por ejemplo, carcinoma de células renales de células claras (RCCC) o RCC metastásico). La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede administrar en combinación con uno o más de: una estrategia basada en el sistema inmunitario (por ejemplo, interleuquina-2 o interferón- α), un agente dirigido (por ejemplo, un inhibidor de VEGF tal como un anticuerpo monoclonal contra VEGF); un inhibidor de tirosina quinasa de VEGF tal como sunitinib, sorafenib, axitinib y pazopanib; un inhibidor de ARNi, o un inhibidor de un mediador secuencia abajo de la señalización de VEGF, por ejemplo, un inhibidor del objetivo mamífero de rapamicina (mTOR), por ejemplo, everolimus y temsirolimus.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en este documento, solos o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento del cáncer de páncreas incluye, pero no se limita a, un agente quimioterapéutico, por ejemplo, paclitaxel o un agente de paclitaxel (por ejemplo, una formulación de paclitaxel tal como TAXOL, una formulación de nanopartículas estabilizadas con albúmina de paclitaxel (por ejemplo, ABRAXANE) o una formulación liposomal de paclitaxel); gemcitabina (por ejemplo, gemcitabina sola o en combinación con AXP107-11); otros agentes quimioterapéuticos como oxaliplatino, 5-fluorouracilo, capecitabina, rubitecano, clorhidrato de epirubicina, NC-6004, cisplatino, docetaxel (por ejemplo, TAXOTERE), mitomicina C, ifosfamida; interferón; inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de EGFR (por ejemplo, erlotinib, panitumumab, cetuximab, nimotuzumab); inhibidor del receptor de HER2/neu (por ejemplo, trastuzumab); inhibidor de la quinasa dual; por ejemplo, bosutinib, saracatinib, lapatinib, vandetanib); inhibidor de multiquinasa (por ejemplo, sorafenib, sunitinib, XL184, pazopanib); inhibidor de VEGF (por ejemplo, bevacizumab, AV-951, brivanib); radioinmunoterapia (por ejemplo, XR303); vacuna contra el cáncer (por ejemplo, GVAX, péptido survivina); inhibidor de COX-2 (por ejemplo, celecoxib); inhibidor del receptor de IGF-1 (por ejemplo, AMG 479, MK-0646); inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus, temsirolimus); inhibidor de IL-6 (por ejemplo, CNTO 328); inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (por ejemplo, P276-00, UCN-01); compuesto que dirigido al metabolismo alterado de energía (AEMD) (por ejemplo, CPI-613); inhibidor de HDAC (por ejemplo, Vorinostat); agonista del receptor 2 de TRAIL (TR-2) (por ejemplo, Conatumumab); inhibidor de MEK (por ejemplo, AS703026, selumetinib, GSK1120212); inhibidor de la quinasa dual Raf/MEK (por ejemplo, R05126766); inhibidor de la señalización de Notch (por ejemplo, MK0752); proteína de fusión anticuerpo monoclonal anticuerpo (por ejemplo, L19IL2); curcumina Inhibidor de HSP90 (por ejemplo, tanespimicina, STA-9090); rIL-2; denileuquina difitox; inhibidor de topoisomerasa 1 (por ejemplo, irinotecano, PEP02); estatina (por ejemplo, simvastatina); inhibidor del factor VIIa (por ejemplo, PCI-27483); inhibidor de AKT (por ejemplo, RX-0201); profármaco activado por hipoxia (por ejemplo, TH-302); clorhidrato de metformina, inhibidor de gamma-secretasa (por ejemplo, RO4929097); inhibidor de la ribonucleótido reductasa (por ejemplo, 3-AP); inmunotoxina (por ejemplo, HuC242-DM4); inhibidor de PARP (por ejemplo, KU-0059436, veliparib); inhalador de CTLA-4 (por ejemplo, CP-675.206, ipilimumab); terapia AdV-tk; inhibidor de proteasoma (por ejemplo, bortezomib (Velcade), NPI-0052); tiazolidindiona (por ejemplo, pioglitazona); NPC-1C; inhibidor de aurora quinasa (por ejemplo, R763/AS703569), inhibidor de CTGF (por ejemplo, FG-3019); siG12D LODER; y radioterapia (por ejemplo, tomoterapia, radiación estereotáctica, terapia de protones), cirugía y una combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, se puede usar una combinación de paclitaxel o un agente de paclitaxel, y gemcitabina con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en este documento.

Un ejemplo de agentes terapéuticos adecuados para su uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento del cáncer de pulmón de células pequeñas incluye, pero no se limita a, un agente quimioterapéutico, por ejemplo, etopósido, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, irinotecano, topotecano, gemcitabina, SN-38 liposomal, bendamustina, temozolomida, belotecano, NK012, FR901228, flavopiridol); inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de EGFR (por ejemplo, erlotinib, gefitinib, cetuximab, panitumumab); inhibidor de multiquinasa (por ejemplo, sorafenib, sunitinib); inhibidor de VEGF (por ejemplo, bevacizumab, vandetanib) vacuna contra el cáncer (por ejemplo, GVAX); inhibidor Bcl-2 (por ejemplo, Oblimersen sódico, ABT-263); inhibidor del proteasoma (por ejemplo, bortezomib (Velcade), NPI-0052), paclitaxel o un agente de paclitaxel; docetaxel; inhibidor del receptor de IGF-1 (por ejemplo, AMG 479); inhibidor de HGF/SF (por ejemplo, AMG 102, MK-0646); cloroquina; inhibidor de aurora quinasa (por ejemplo, MLN8237); radioinmunoterapia (por ejemplo, TF2); inhibidor de HSP90 (por ejemplo, tanespimicina, STA-9090); inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus); anticuerpo

biespecífico Ep-CAM-/CD3 (por ejemplo, MT110); inhibidor de CK-2 (por ejemplo, CX-4945); inhibidor de HDAC (por ejemplo, belinostat); antagonista de SMO (por ejemplo, BMS 833923); vacuna peptídica contra el cáncer, y radioterapia (por ejemplo, radioterapia modulada por intensidad (IMRT), radioterapia hipofraccionada, radioterapia guiada por hipoxia), cirugía y combinaciones de los mismos.

- 5 Un ejemplo descompuestos terapéuticos adecuadas para su uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solos o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento de cáncer de pulmón de células no pequeñas, incluye, pero no se limita a, un agente quimioterapéutico, por ejemplo, vinorelbina, cisplatino, docetaxel, pemetrexed disódico, etopósido, gemcitabina, carboplatino, SN-38 liposomal, TLK286, temozolomida, topotecano, pemetrexed disódico, azacitidina, irinotecano, tegafur-gimeracil-oteracil potásico, sapacitabina); inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de EGFR (por ejemplo, erlotinib, gefitinib, cetuximab, panitumumab, necitumumab, PF-00299804, nimotuzumab, RO 5083945), inhibidor de MET (por ejemplo, PF-02341066, ARQ 197), inhibidor de PI3K quinasa (por ejemplo, XL147, GDC-0941), inhibidor de quinasa dual Raf/MEK (por ejemplo, RO5126766), inhibidor de quinasa dual PI3K/mTOR (por ejemplo, XL765), inhibidor de SRC (por ejemplo, dasatinib), inhibidor dual (por ejemplo, BIBW 2992, GSK1363089, ZD6474, AZD0530, AG-013736, lapatinib, MEHD7945A, linifanib), inhibidor de multiquinasa (por ejemplo, sorafenib, sunitinib, pazopanib, AMG 706, XL184, MGC265, BMS-690514, R935788), inhibidor de VEGF (por ejemplo, endostar, endostatina, bevacizumab, cediranib, BIBF 1120, axitinib, tivozanib, AZD2171), vacuna contra el cáncer (por ejemplo, vacuna de liposoma BLP25, GVAX, ADN recombinante y adenovirus que expresan la proteína L523S), inhibidor de Bcl-2 (por ejemplo, Oblimersen sódico), inhibidor de proteasoma (por ejemplo, bortezomib, carfilzomib, NPI-0052, MLN9708), paclitaxel o un agente de paclitaxel, docetaxel, inhibidor del receptor de IGF-1 (por ejemplo, cixutumumab, MK-0646, OSI 906, CP-751, 871, BIIB022), hidroxyclorequina, inhibidor de HSP90 (por ejemplo, tanespimicina, STA-9090, AU922, XL888), inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus, temsirolimus), anticuerpo biespecífico de Ep-CAM-/CD3 (por ejemplo, MT110), inhibidor de CK-2 (por ejemplo, CX-4945), inhibidor de HDAC (por ejemplo, MS 275, LBH589, vorinostat, ácido valproico, FR901228), inhibidor de DHFR (por ejemplo, pralatrexato), retinoide (por ejemplo, bexaroteno, tretinoína), conjugado anticuerpo-fármaco (por ejemplo, SGN-15), bisfosfonato (por ejemplo, ácido zoledrónico), vacuna contra el cáncer (por ejemplo, belagenpumatucel-L), heparina de bajo peso molecular (LMWH) (por ejemplo, tinzaparina, enoxaparina), GSK1572932A, melatonina, talactoferrina, dimesna, inhibidor de topoisomerasa (por ejemplo, amrubicina, etopósido, karenitecina), nelfinavir, cilengitide inhibidor de Erbb3 (por ejemplo, MM-121, U3-1287) inhibidor de survivina (por ejemplo YM155, LY2181308) mesilato de eribulina, inhibidor de COX-2 (por ejemplo, celecoxib), pegfilgrastim, inhibidor de quinasa 1 similar a Polo (por ejemplo, BI 6727), agonista del receptor 2 de TRAIL (TR-2) (por ejemplo, CS-1008), conjugado del péptido CNGRC (SEQ ID NO: 225)-TNF alfa, dicloroacetato (DCA), inhibidor de HGF (por ejemplo, SCH 900105), SAR240550, agonista de PPAR-gamma (por ejemplo, CS-7017), inhibidor de gamma-secretasa (por ejemplo, RO4929097), terapia epigenética (por ejemplo, 5-azacitidina), nitroglicerina, inhibidor de MEK (por ejemplo, AZD6244), inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (por ejemplo, UCN-01), colesterol-Fusl, agente antitubulina (por ejemplo, E7389), inhibidor farnesil-OH-transferasa (por ejemplo, lonafarnib), inmunotoxina (por ejemplo, BB-10901, SS1 (bcFv) PE38), fondaparinux, agente disruptor vascular (por ejemplo, AVE8062), inhibidor de PD-L1 (por ejemplo, MDX-1105, MDX-1106), beta-glucano, NGR-hTNF, EMD 521873, inhibidor de MEK (por ejemplo, GSK1120212), análogo de epotilona (por ejemplo, ixabepilona), inhibidor del huso de quinesina (por ejemplo, 4SC-205), agente de direccionamiento del telómero (por ejemplo, KML-001), inhibidor de la vía P70 (por ejemplo, LY2584702), inhibidor de AKT (por ejemplo, MK-2206), inhibidor de angiogénesis (por ejemplo, lenalidomida), inhibidor de la señalización de Notch (por ejemplo, OMP-21M18), radioterapia, cirugía y combinaciones de los mismos.

- Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento del cáncer de ovario incluye, pero no se limita a, un agente quimioterapéutico (por ejemplo, paclitaxel o un agente de paclitaxel, docetaxel; carboplatino; gemcitabina; doxorubicina; topotecano; cisplatino; irinotecano, TLK286, ifosfamida, olaparib, oxaliplatino, melfalán, pemetrexed disódico, SJG-136, ciclofosfamida, etopósido, decitabina); antagonista de ghrelina (por ejemplo, AEZS-130), inmunoterapia (por ejemplo, APC8024, oregovomab, OPT-821), inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de EGFR (por ejemplo, erlotinib), inhibidor dual (por ejemplo, E7080), inhibidor multiquinasa (por ejemplo, AZD0530, JI-101, sorafenib, sunitinib, pazopanib, ON 01910.Na), inhibidor de VEGF (por ejemplo, bevacizumab, BIBF 1120, cediranib, AZD2171), inhibidor de PDGFR (por ejemplo, IMC-3G3), paclitaxel, inhibidor de topoisomerasa (por ejemplo, karenitecina, irinotecano), inhibidor de HDAC (por ejemplo, valproato, vorinostat), inhibidor del receptor de folato (por ejemplo, farletuzumab), inhibidor de la angiopoyetina (por ejemplo, AMG 386), análogo de epotilona (por ejemplo, ixabepilona), inhibidor del proteasoma (por ejemplo, carilzomibi), Inhibidor del receptor de IGF-1 (por ejemplo, OSI 906, AMG 479), inhibidor de PARP (por ejemplo, veliparib, AG014699, iniparib, MK-4827), inhibidor de la aurora quinasa (por ejemplo, MLN8237, ENMD-2076), inhibidor de angiogénesis (por ejemplo, lenalidomida), inhibidor de la DHFR (por ejemplo, Pralatrexato), agente radioinmunoterapéutico (por ejemplo, Hu3S193), estatina (por ejemplo, lovastatina), inhibidor de topoisomerasa 1 (por ejemplo, NKTR-102), vacuna contra el cáncer (por ejemplo, vacuna sintética de péptidos largos P53, vacuna autóloga OC-DC), inhibidor de mTOR (por ejemplo, temsirolimus, everolimus), inhibidor de BCR/ABL (por ejemplo, imatinib), antagonista del receptor de ET-A (por ejemplo, ZD4054), agonista del receptor de TRAIL 2 (TR-2) (por ejemplo, CS-1008), Inhibidor de HGF/SF (por ejemplo, AMG 102), EGEN-001, inhibidor de quinasa 1 similar a Polo (por ejemplo, BI 6727), inhibidor de gamma-secretasa (por ejemplo, RO4929097), inhibidor de Wee-1 (por ejemplo, MK-1775), agente antitubulina (por ejemplo, vinorelbina, E7389), inmunotoxina (por ejemplo, denileuquina

diffitox), SB-485232, agente de ruptura vascular (por ejemplo, AVE8062), inhibidor de integrina (por ejemplo, EMD 525797), inhibidor del huso de quinesina (por ejemplo, 4SC) 205), revlimid, inhibidor de HER2 (por ejemplo, MGAH22), inhibidor de ErrB3 (por ejemplo, MM-121), radioterapia; y combinaciones de los mismos.

En un ejemplo de realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), es utilizada para tratar un mieloma, solo o en combinación con uno o más de: quimioterapia u otros agentes anticancerosos (por ejemplo, análogos de la talidomida, por ejemplo, lenalidomida), HSCT (Cook, R. (2008) J Manag Care Pharm. 14 (Suplemento 7): 19-25), un anticuerpo anti-TIM3 (Hallett, WHD et al., (2011) J of American Society for Blood and Marrow Transplantation 17 (8): 1133-145), células dendríticas pulsadas con antígeno tumoral, fusiones (por ejemplo, electrofusiones) de células tumorales y células dendríticas, o vacunación con idiotipo de inmunoglobulina producida por células plasmáticas malignas (revisado en Yi, Q. (2009) Cancer J. 15 (6): 502-10).

En aún otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, sola o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), se usa para tratar un cáncer renal, por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC) o RCC metastásico. La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede administrar en combinación con una o más de: una estrategia basada en el sistema inmunitario (por ejemplo, interleuquina-2 o interferón- α), un agente dirigido (por ejemplo, un inhibidor de VEGF, tal como un anticuerpo monoclonal) para VEGF, por ejemplo, bevacizumab (Rini, BI et al., (2010) J. Clin. Oncol. 28 (13): 2137-2143); un inhibidor de tirosina quinasa VEGF, tal como sunitinib, sorafenib, axitinib y pazopanib (revisado en Pal. S. K. et al., (2014) Clin. Advances in Hematology & Oncology 12 (2): 90-99); un inhibidor de ARNi, o un inhibidor de un mediador secuencia abajo de la señalización de VEGF, por ejemplo, un inhibidor del objetivo mamífero de rapamicina (mTOR), por ejemplo, everolimus y temsirolimus (Hudes, G. et al., (2007) N. Engl. J. Med. 356 (22): 2271-2281, Motzer, RJ et al., (2008) Lancet 372: 449-456).

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en este documento, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD -L1), para el tratamiento de la leucemia mielógena crónica (AML) de acuerdo con la descripción incluye, pero no se limita a, un compuesto quimioterapéutico (por ejemplo, citarabina, hidroxiurea, clofarabina, melfalán, tiotepa, fludarabina, busulfano, etopósido, cordicelina, pentostatina, capecitabina, azacitidina, ciclofosfamida, cladribina, topotecano), inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de BCR/ABL (por ejemplo, imatinib, nilotinib), ON 01910.Na, inhibidor dual (por ejemplo, dasatinib, bosutinib, DCC-2036, ponatinib, sorafenib, sunitinib, RGB-286638), interferón alfa, esteroides, agente apoptótico (por ejemplo, mepesuccinato de omacetaxina), inmunoterapia (por ejemplo, células T similares a Th1 de memoria CD4+ alogénicas/anti-CD3/anti-CD28 unidas a micropartículas, células asesinas inducidas por citoquina autóloga (CIK), AHN-12), agente de direccionamiento a CD52 (por ejemplo, alemtuzumab), inhibidor de HSP90 (por ejemplo, tanespimicina, STA-9090, AUY922, XL888), inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus), antagonista de SMO (por ejemplo, BMS 833923), inhibidor de la ribonucleótido reductasa (por ejemplo, 3-AP), inhibidor de JAK-2 (por ejemplo, INCB018424), hidroxyclorequina, retinoide (por ejemplo, fenretinida), inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (por ejemplo, UCN-01), inhibidor de HDAC (por ejemplo, belinostat, vorinostat, JNJ-26481585), inhibidor de PARP (por ejemplo, veliparib), antagonista de MDM2 (por ejemplo, RO5045337), inhibidor de quinasa aurora B (por ejemplo, TAK-901), radioinmunoterapia (por ejemplo, anticuerpo anti-CD33 marcado con actinio-225 HuM195), inhibidor de Hedgehog (por ejemplo, PF-04449913), inhibidor de STAT3 (por ejemplo, OPB-31121), KB004, vacuna contra el cáncer (por ejemplo, AG858), trasplante de médula ósea, trasplante de células madre, radioterapia, y combinaciones de los mismos.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solos o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (CLL) incluye, pero no se limita, un agente quimioterapéutico (por ejemplo, fludarabina, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, clorambucil, bendamustina, clorambucil, busulfan, gemcitabina, melfalan, pentostatina, 5-azacitidina, pemetrexed disódico), inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de EGFR (por ejemplo, erlotinib), inhibidor de BTK (por ejemplo, PCI-32765), inhibidor de multiquinasa (por ejemplo, MGCD265, RGB-286638), agente de direccionamiento de CD-20 (por ejemplo, rituximab, ofatumumab, RO5072759, LFB-R603), agente de direccionamiento CD52 (por ejemplo, alemtuzumab), prednisolona, darbepoyetina alfa, lenalidomida, inhibidor de Bcl-2 (por ejemplo, ABT-263), inmunoterapia (por ejemplo, células T similares a Th1 de memoria CD4+ alogénicas/anti-CD3/anti-CD28 unidas a micropartículas, células asesinas inducidas por citoquina autóloga (CIK)), inhibidor de HDAC (por ejemplo, vorinostat, ácido valproico, LBH589, JNJ-26481585, AR-42), inhibidor de XIAP (por ejemplo, AEG35156), agente de direccionamiento de CD-74 (por ejemplo, milatuzumab), inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus), AT-101, inmunotoxina (por ejemplo, CAT-8015, anti-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2)), agente de direccionamiento de CD37 (por ejemplo, TRU-016), radioinmunoterapia (por ejemplo, 131-tositumomab), hidroxyclorequina, perifosina, inhibidor de SRC (por ejemplo, dasatinib), talidomida, inhibidor de PI3K delta (por ejemplo, CAL-101), retinoide (por ejemplo, fenretinida), antagonista de MDM2 (por ejemplo, RO5045337), plerixafor, inhibidor de aurora quinasa (por ejemplo, MLN8237, TAK-901), inhibidor del proteasoma (por ejemplo, bortezomib), agente de direccionamiento de CD-19 (por ejemplo, MEDI-551, MOR208), inhibidor de MEK (por ejemplo, ABT-348), inhibidor de JAK-2 (por ejemplo, INCB018424) profármaco activado por hipoxia (por ejemplo, TH-302), paclitaxel o un agente de paclitaxel, inhibidor de HSP90, inhibidor de AKT (por ejemplo, MK2206), inhibidor de HMG-CoA (por ejemplo, simvastatina), GNKG186, radioterapia, trasplante de médula ósea, trasplante de células madre, y una combinación de los mismos.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda (LLA) incluye, pero no se limita a, un agente quimioterapéutico (por ejemplo, prednisona, dexametasona, vincristina, asparaginasa, daunorrubicina, ciclofosfamida, citarabina, etopósido, tioguanina, mercaptopurina, clofarabina, annamicina liposomal, busulfan, etopósido, capecitabina, decitabina, azacitidina, topotecano, temozolomida), inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de BCR/ABL), (por ejemplo, imatinib, nilotinib), ON 01910.Na, inhibidor de multiquinasa, (por ejemplo, sorafenib)), agente de direccionamiento de CD-20 (por ejemplo, rituximab), agente de direccionamiento de CD52 (por ejemplo, alemtuzumab), inhibidor de HSP90 (por ejemplo, STA-9090), inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus, rapamicina), inhibidor de JAK-2 (por ejemplo, INCB018424), inhibidor del receptor de HER2/neu (por ejemplo, trastuzumab), inhibidor de proteasoma (por ejemplo, bortezomib), metotrexato, asparaginasa, agente de direccionamiento de CD-22 (por ejemplo, epratuzumab, inotuzumab), inmunoterapia (por ejemplo, células asesinas inducidas por citoquinas autólogas (CIK), AHN-12), blinatumomab, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (por ejemplo, UCN-01), agente de direccionamiento de CD45 (por ejemplo, BC8), antagonista de MDM2 (por ejemplo, RO5045337), inmunotoxina (por ejemplo, CAT-8015, DT2219ARL), inhibidor de HDAC (por ejemplo, JNJ-26481585), JVRS-100, paclitaxel o un agente de paclitaxel, inhibidor de STAT3 (por ejemplo, OPB-31121), inhibidor de PARP (por ejemplo, veliparib), EZN-2285, radioterapia, esteroides, trasplante de médula ósea, trasplante de células madre o una combinación de los mismos.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para su uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritos en el presente documento, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML) incluye, pero no se limita a, un agente quimioterapéutico (por ejemplo, citarabina, daunorrubicina, idarubicina, clofarabina, decitabina, vosaroxina, azacitidina, clofarabina, decitabina, vosaroxina, azacitidina, clofarabina, caxirina, CPX-351, treosulfano, elacyababina, azacitidina), inhibidor de la tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de BCR/ABL (por ejemplo, imatinib, nilotinib), ON 01910.Na, inhibidor de multiquinasa (por ejemplo, midostaurin, SU 11248, quizartinib, sorafenib)), inmunotoxina (por ejemplo, gemtuzumab ozogamicina), proteína de fusión DT388IL3, inhibidor de HDAC (por ejemplo, vorinostat, LBH589), plerixafor, inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus), inhibidor de SRC (por ejemplo, dasatinib), inhibidor de HSP90 (por ejemplo, STA-9090), retinoide (por ejemplo, bexaroteno, inhibidor de aurora quinasa (por ejemplo, BI 811283), inhibidor de JAK-2 (por ejemplo, INCB018424), inhibidor de quinasa similar a Polo (por ejemplo, BI 6727), cenersen, agente de direccionamiento de CD45 (por ejemplo, BC8), inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (por ejemplo, UCN-01), antagonista de MDM2 (por ejemplo, RO5045337), inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus), LY573636-sodio, ZRx-101, MLN4924, lenalidomida, inmunoterapia (por ejemplo, AHN-12), diclorhidrato de histamina, radioterapia, trasplante de médula ósea, trasplante de células madre y una combinación de los mismos.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en este documento, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento del mieloma múltiple (MM) incluye, pero no se limita a, un agente quimioterapéutico (por ejemplo, melfalán, amifostina, ciclofosfamida, doxorubicina, clofarabina, bendamustina, fludarabina, adriamicina, SyB L-0501), talidomida, lenalidomida, dexametasona, prednisona, pomalidomida, inhibidor del proteasoma (por ejemplo, bortezomib, carfilzomib, MLN9708), vacuna contra el cáncer (por ejemplo, GVAX), agente de direccionamiento de CD-40 (por ejemplo, SGN-40, CHIR-12,12), perifosina, ácido zoledrónico, inmunoterapia (por ejemplo, MAGE-A3, NY-ESO-1, HuMax-CD38), inhibidor de HDAC (por ejemplo, vorinostat, LBH589, AR-42), aplidina, inhibidor de quinasa dependiente de ciclina (por ejemplo, PD-0332991, dinaciclib), trióxido de arsénico, CB3304, inhibidor de HSP90 (por ejemplo, KW-2478), inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de EGFR (por ejemplo, cetuximab), inhibidor de multiquinasa (por ejemplo, AT9283), inhibidor de VEGF (por ejemplo, bevacizumab), plerixafor, inhibidor de MEK (por ejemplo, AZD6244), IPH2101, atorvastatina, inmunotoxina (por ejemplo, BB-10901), NPI-0052, radioinmunoterapia (por ejemplo, Itrio Y90, ibritumomab, tiuxetano), inhibidor de STAT3 (por ejemplo, OPB-31121), MLN4924, inhibidor de aurora quinasa (por ejemplo, ENMD-2076), IMG901, ACE-041, inhibidor de CK-2 (por ejemplo, CX-4945), radioterapia, trasplante de médula ósea, trasplante de células madre y una combinación de los mismos.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-1 o anti-PD-L1), para el tratamiento del cáncer de próstata incluye, pero no se limita a, un agente quimioterapéutico (por ejemplo, docetaxel, carboplatino, fludarabina), abiraterona, terapia hormonal (por ejemplo, flutamida, bicalutamida, nilutamida, acetato de ciproterona, ketoconazol, aminoglutetimida abarelix, degarelix, leuprolida, goserelina, triptorelina, buserelina), inhibidor de tirosina quinasa (por ejemplo, inhibidor de quinasa dual (por ejemplo, lapatanib), inhibidor de multiquinasa (por ejemplo, sorafenib, sunitinib)), inhibidor de VEGF (por ejemplo, bevacizumab), TAK-700, vacuna contra el cáncer (por ejemplo, BPX-101, PEP223), lenalidomida, TOK-001, inhibidor del receptor de IGF-1 (por ejemplo, cixutumumab), TRC105, inhibidor de aurora quinasa A (por ejemplo, MLN8237), inhibidor del proteasoma (por ejemplo, bortezomib), OGX-011, radioinmunoterapia (por ejemplo, HuJ591-GS), inhibidor de HDAC (por ejemplo, ácido valproico, SB939, LBH589), hidroxiclороquina, inhibidor de mTOR (por ejemplo, everolimus), lactato de dovitinib, diindolilmetano, efavirenz, OGX-427, genisteína, IMC-3G3, bafetinib, CP-675.206, radioterapia, cirugía o una combinación de los mismos.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento de HNSCC incluye, pero no se limita a, uno o ambos del compuesto A8 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/029082) y cetuximab (por ejemplo, erbitux, comercializado por BMS). En algunas realizaciones, el compuesto terapéutico (por ejemplo, el compuesto A8 o un compuesto relacionado con A8) es un modulador de PI3K, por ejemplo, un inhibidor de PI3K. En algunas realizaciones, el compuesto terapéutico (por ejemplo, cetuximab) modula, por ejemplo, inhibe, EGFR. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se identifica que tiene, niveles o actividad elevados de PI3K o EGFR en comparación con una célula de control o un valor de referencia.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una v anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento del cáncer gástrico, por ejemplo, cáncer gástrico alto en MSI y/o EBV+ incluye, pero no se limita a, el compuesto A8 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/029082). En algunas realizaciones, el compuesto terapéutico (por ejemplo, el compuesto A8 o un compuesto relacionado con A8) es un modulador de PI3K, por ejemplo, un inhibidor de PI3K. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se identifica que tiene, niveles o actividad elevados de PI3K en comparación con una célula de control o un valor de referencia.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para su uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento del cáncer gástrico, por ejemplo, cáncer gástrico alto en MSI y/o inactivado por RNF43, incluye, pero no se limita a, el compuesto A28 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/101849). En algunas realizaciones, el compuesto terapéutico (por ejemplo, el compuesto A28 o compuesto relacionado con A28) es un modulador, por ejemplo, un inhibidor de puercoespín. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se identifica que tiene, niveles o actividad elevados de puercoespín en comparación con una célula de control o valor de referencia.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para su uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento del tumor estromal GI (GIST), incluye, pero no se limita a, el compuesto A16 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 1999/003854). En algunas realizaciones, el compuesto terapéutico (por ejemplo, el compuesto A16 o el compuesto relacionado con A16) es un modulador, por ejemplo, un inhibidor, de una tirosina quinasa. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se determina que tiene, niveles o actividad elevados de una tirosina quinasa en comparación con una célula de control o valor de referencia.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento de NSCLC, por ejemplo, escamoso o adenocarcinoma, incluye, pero no se limita a, uno o ambos del compuesto A17 como se describe en este documento (o un compuesto descrito en las patentes de Estados Unidos Nos. 7,767,675 y 8,420,645) y el compuesto A23 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/077914). En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, el compuesto A17 o el compuesto relacionado con A17) modula, por ejemplo, inhibe, c-MET. En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, el compuesto A23 o compuesto relacionado con A23) modula, por ejemplo, inhibe, Alk. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se determina que tiene, niveles o actividad elevados de uno o ambos de c-MET o Alk en comparación con una célula de control o valor de referencia. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se identifica que tiene, una mutación en EGFR.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento del melanoma (por ejemplo, melanoma NRAS) incluye, pero no se limita a, uno o ambos del compuesto A24 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en las patentes de Estados Unidos Nos 8,415,355 y 8,685,980) y el compuesto A34 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/077914). En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, el compuesto A24 o compuesto relacionado con A24) modula, por ejemplo, inhibe, uno o más de JAK y CDK4/6. En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, el compuesto A34 o compuesto relacionado con A34) modula, por ejemplo, inhibe, MEK. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se identifica que tiene, niveles o actividad elevados de uno o más de JAK, CDK4/6 y MEK en comparación con una célula de control o valor de referencia.

Un ejemplo de agentes terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento del melanoma (por ejemplo, melanoma NRAS) incluye, pero no se limita a, uno o ambos del compuesto A29 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/025927) y el compuesto A34 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/077914). En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, el compuesto A29

o el compuesto relacionado con A29) modula, por ejemplo, inhibe, BRAF. En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, el compuesto A34 o compuesto relacionado con A34) modula, por ejemplo, inhibe, MEK. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se identifica que tiene, niveles o actividad elevados de uno o ambos de BRAF y MEK en comparación con una célula de control o valor de referencia.

Un ejemplo de agentes terapéuticos adecuados para su uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento del NSCLC escamoso incluye, pero no se limita a, el compuesto A5 como se describe en el presente documento (o un compuesto descrito en la Patente de Estados Unidos No. 8,552,002). En algunas realizaciones, el compuesto (por ejemplo, el compuesto A5 o compuesto relacionado con A5) modula, por ejemplo, inhibe, FGFR. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se identifica que tiene, niveles o actividad elevados de FGFR en comparación con una célula de control o valor de referencia.

Un ejemplo de compuestos terapéuticos adecuados para uso en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1), para el tratamiento del cáncer colorrectal incluye, pero no se limita a, uno o ambos del compuesto A29 como se describe en este documento (o un compuesto de la publicación PCT No. WO 2011/025927) y cetuximab (por ejemplo, Erbitux, comercializado por BMS). En algunas realizaciones, el compuesto terapéutico (por ejemplo, el compuesto A29 o compuesto relacionado con A29) modula, por ejemplo, inhibe, BRAF. En algunas realizaciones, el compuesto terapéutico (por ejemplo, cetuximab) modula, por ejemplo, inhibe EGFR. En algunas realizaciones, el cáncer tiene, o se identifica que tiene, niveles o actividad elevados de BRAF o EGFR en comparación con una célula de control o valor de referencia.

Esta descripción también proporciona un método para tratar cáncer con el compuesto A8, el cetuximab y una molécula de anticuerpo TIM-3 (opcionalmente en combinación con una molécula de anticuerpo PD-1 o una molécula de anticuerpo LAG-3). En algunas realizaciones, el paciente se trata primero con el compuesto A8 y cetuximab. Este tratamiento continúa durante un período de tiempo, por ejemplo, un tiempo predeterminado, por ejemplo, aproximadamente 1, 2, 4, 6, 8, 10 o 12 meses. A continuación, se administra la molécula de anticuerpo TIM-3 (opcionalmente en combinación con una molécula de anticuerpo PD-1 o molécula de anticuerpo LAG-3). El anticuerpo TIM-3 puede administrarse opcionalmente en combinación con cetuximab.

En algunas realizaciones, el paciente se trata primero con los tres, el compuesto A8, cetuximab y una molécula de anticuerpo TIM-3 (opcionalmente en combinación con una molécula de anticuerpo PD-1 o una molécula de anticuerpo LAG-3). Este tratamiento continúa por un período de tiempo, por ejemplo, un tiempo predeterminado, por ejemplo, aproximadamente 6, 8, 10 o 12 meses. A continuación, el compuesto A8 y/o cetuximab pueden reducirse gradualmente, de modo que la fase de mantenimiento involucra el tratamiento con la molécula de anticuerpo TIM-3 (por ejemplo, como una monoterapia, o en combinación con una molécula de anticuerpo PD-1 o una molécula de anticuerpo LAG-3) pero no el compuesto A8 o cetuximab.

En otras realizaciones, los tres compuestos (compuesto A8, cetuximab y una molécula de anticuerpo TIM-3, opcionalmente en combinación con una molécula de anticuerpo PD-1 o una molécula de anticuerpo LAG-3) se administran secuencialmente al inicio del tratamiento. Por ejemplo, el compuesto A8 y el cetuximab se pueden administrar primero, como se describió anteriormente. A continuación, se agrega al régimen la molécula de anticuerpo TIM-3 (opcionalmente en combinación con una molécula de anticuerpo PD-1 o una molécula de anticuerpo LAG-3). A continuación, el compuesto A8 y/o el cetuximab pueden reducirse como se describió anteriormente.

Los ejemplos de dosis para los tres (o más) regímenes de agentes son las siguientes. La molécula de anticuerpo TIM-3 se puede administrar, por ejemplo, a una dosis de aproximadamente 1 a 40 mg/kg, por ejemplo, de 1 a 30 mg/kg, por ejemplo, de aproximadamente 5 a 25 mg/kg, de aproximadamente 10 a 20 mg/kg, aproximadamente 1 a 5 mg/kg, o aproximadamente 3 mg/kg. En algunas realizaciones, el compuesto A8 se administra a una dosis de aproximadamente 200-300, 300-400 o 200-400 mg. En algunas realizaciones, el cetuximab se administra a una dosis inicial de 400 mg/m² tal como una infusión intravenosa de 120 minutos seguida de 250 mg/m² infundidos semanalmente durante 60 minutos. En realizaciones, una o más del compuesto A8, cetuximab y la molécula de anticuerpo TIM-3 se administran a una dosis que es más baja que la dosis a la que se administra típicamente ese agente como una monoterapia, por ejemplo, aproximadamente 0-10%, 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80%, u 80-90% menor que la dosis a la que ese agente se administra típicamente como una monoterapia. En realizaciones, uno o más del compuesto A8, cetuximab y la molécula de anticuerpo TIM-3 se administran a una dosis que es menor que la dosis de ese agente que se menciona en este párrafo, por ejemplo, aproximadamente 0-10%, 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80%, o 80-90% más bajo que la dosis de ese agente mencionada en este párrafo. En ciertas realizaciones, la concentración del compuesto A8 que se requiere para lograr la inhibición, por ejemplo, la inhibición del crecimiento, es menor cuando el compuesto A8 se administra en combinación con una o ambas cetuximab y la molécula de anticuerpo TIM-3 que cuando el compuesto A8 se administra individualmente. En ciertas realizaciones, la concentración del cetuximab que se requiere para lograr la inhibición, por ejemplo, la inhibición del crecimiento, es menor cuando el cetuximab se administra en combinación con uno o ambos del compuesto A8 y la molécula de anticuerpo TIM-3 que cuando se administra el cetuximab individualmente. En ciertas realizaciones, la concentración de la molécula de anticuerpo TIM-3 que se requiere para lograr la inhibición, por ejemplo, la inhibición del crecimiento, es menor cuando la molécula de anticuerpo TIM-3 se administra en

combinación con uno o ambos de cetuximab y el compuesto A8 que cuando se administra la molécula de anticuerpo TIM-3 individualmente.

Se describe adicionalmente en el presente documento un método para tratar el cáncer con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, solas o en combinación con otro inmunomodulador (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, anti-PD-L1 o anti-PD-1) y un agente dirigido contra el cáncer, por ejemplo, un agente que se dirige a una o más proteínas. En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 (y opcionalmente otro u otros inmunomoduladores) se administran primero, y el agente dirigido contra el cáncer se administra en segundo lugar. El tiempo entre la administración de la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y el agente dirigido contra el cáncer puede ser, por ejemplo, 10, 20 o 30 minutos, 1, 2, 4, 6 o 12 horas, o 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días, o cualquier período de tiempo dentro de este intervalo. En ciertas realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se administra repetidamente durante un período de tiempo (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días, o 1, 2, 4, 8, 12, 16, o 20 semanas, o cualquier período de tiempo dentro de este intervalo) antes de administrar el agente dirigido contra el cáncer. En otras realizaciones, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 y el agente dirigido contra el cáncer se administran sustancialmente al mismo tiempo.

Métodos de tratamiento de enfermedades infecciosas

Otros métodos de la descripción se usan para tratar pacientes que han sido expuestos a toxinas o patógenos particulares. Con base en, al menos, los Ejemplos en este documento, los anticuerpos anti-TIM-3 pueden estimular la muerte mediada por células NK de células objetivo y pueden mejorar la secreción de IFN-gamma y la proliferación de células T CD4+. Por consiguiente, en ciertas realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento son adecuadas para usar en la estimulación de una respuesta inmune contra un agente infeccioso. Por consiguiente, otro aspecto de la descripción proporciona un método para tratar una enfermedad infecciosa en un sujeto que comprende administrar al sujeto una molécula de anticuerpo anti-TIM-3, de manera que el sujeto se trate por la enfermedad infecciosa. En el tratamiento de la infección (por ejemplo, aguda y/o crónica), la administración de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 se pueden combinar con tratamientos convencionales además de o en lugar de estimular las defensas inmunitarias naturales del huésped contra la infección. Las defensas naturales del sistema inmunitario contra la infección incluyen, pero no se limitan a, inflamación, fiebre, defensa del huésped mediada por anticuerpos, defensas del huésped mediadas por linfocitos T, incluida la secreción de linfocinas y las células T citotóxicas (especialmente durante la infección viral), lisis mediada por el complemento y opsonización (fagocitosis facilitada), y fagocitosis. La capacidad de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 para reactivar células T disfuncionales sería útil para tratar infecciones crónicas, en particular aquellas en las que la inmunidad mediada por células es importante para una recuperación completa.

Ciertos métodos descritos en el presente documento se utilizan para tratar pacientes que han sido expuestos a toxinas o patógenos particulares. Algunos aspectos proporcionan un método para tratar una enfermedad infecciosa en un sujeto que comprende administrar al sujeto una molécula de anticuerpo anti-TIM-3, de manera que el sujeto se trate por la enfermedad infecciosa.

De forma similar a su aplicación a los tumores como se discutió en la sección anterior, y en las realizaciones, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden usarse solas, o como un adyuvante, en combinación con vacunas, para estimular la respuesta inmune a, por ejemplo, patógenos o toxinas. Los ejemplos de patógenos para los cuales este enfoque terapéutico puede ser particularmente útil, incluyen patógenos para los que actualmente no existe una vacuna eficaz, o patógenos para los cuales las vacunas convencionales son menos que completamente efectivas. Estos incluyen, pero no se limitan a, HIV, hepatitis (A, B y C), influenza, herpes, Giardia, malaria, Leishmania, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. La terapia con la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 también es útil contra infecciones establecidas por agentes como el HIV que presentan antígenos alterados en el transcurso de las infecciones.

Por consiguiente, en algunas realizaciones, se usa una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 para tratar a un sujeto que tiene una infección o está en riesgo de tener una infección. Una infección se refiere, por ejemplo, a una enfermedad o afección atribuible a la presencia en un huésped de un organismo extraño o agente que se reproduce dentro del huésped. Las infecciones típicamente involucran la ruptura de una barrera de la mucosa normal u otro tejido por un organismo o agente infeccioso. Un sujeto que tiene una infección es un sujeto que tiene organismos infecciosos objetivamente medibles o agentes presentes en el cuerpo del sujeto. Un sujeto en riesgo de tener una infección es un sujeto que está predispuesto a desarrollar una infección. Tal sujeto puede incluir, por ejemplo, un sujeto con una exposición conocida o sospechada a un organismo o agente infeccioso. Un sujeto en riesgo de tener una infección también puede incluir a un sujeto con una condición asociada con una capacidad alterada para desarrollar una respuesta inmune a un organismo o agente infeccioso, por ejemplo, un sujeto con una inmunodeficiencia congénita o adquirida, un sujeto sometido a radioterapia o quimioterapia, un sujeto con una lesión por quemadura, un sujeto con una lesión traumática, un sujeto sometido a cirugía u otro procedimiento médico o dental invasivo.

Las infecciones se clasifican ampliamente como bacterianas, víricas, fúngicas o parasitarias de acuerdo con, la categoría del organismo o agente infeccioso involucrado. Otros tipos de infección menos comunes incluyen, por ejemplo, infecciones que involucran rickettsias, micoplasmas y agentes que causan encefalopatía espongiforme ovina, encefalopatía espongiforme bovina (BSE) y las enfermedades priónicas (por ejemplo, kuru y enfermedad de

Creutzfeldt-Jacob). Los ejemplos de bacterias, virus, hongos y parásitos que causan infección son bien conocidos en la técnica. Una infección puede ser aguda, subaguda, crónica o latente, y puede ser localizada o sistémica. Además, una infección puede ser predominantemente intracelular o extracelular durante al menos una fase del ciclo de vida del organismo o agente infeccioso en el huésped.

5 Virus

Los ejemplos de virus que se han encontrado que causan infecciones en humanos incluyen, entre otros: Retroviridae (por ejemplo, virus de inmunodeficiencia humana, tales como el HIV-1 (también denominado HTLV-III), HIV-2, LAV o HTLV-III/LAV, o HIV-III, y otros aislados, tales como HIV-LP; Picornaviridae (por ejemplo, virus de la polio, virus de la hepatitis A; enterovirus, virus Cocksackie humano, rinovirus, ecovirus); Calciviridae (cepas que causan gastroenteritis); 10 Togaviridae (por ejemplo, virus de la encefalitis equina, virus de la rubéola); Flaviviridae (por ejemplo, virus del dengue, virus de encefalitis, virus de fiebre amarilla); Coronaviridae (por ejemplo, coronavirus); Rhabdoviridae (por ejemplo, virus de estomatitis vesicular, virus de la rabia); Filoviridae (por ejemplo, virus del ébola); Paramyxoviridae (por ejemplo, virus de parainfluenza, virus de paperas, virus del sarampión, virus sincitial respiratorio); Orthomyxoviridae (por ejemplo, virus de la influenza); Bungaviridae (por ejemplo, virus Hantaan, virus bunga, virus phlebovirus y virus 15 Nairo); Arena viridae (virus de la fiebre hemorrágica); Reoviridae (por ejemplo, reovirus, orbivirus y rotavirus); Birnaviridae; Hepadnaviridae (virus de la hepatitis B); Parvoviridae (parvovirus); Papovaviridae (virus de papiloma, virus de polioma); Adenoviridae (la mayoría de los adenovirus); Herpesviridae (virus del herpes simple (HSV) 1 y 2, virus zoster de la varicela, Citomegalovirus (CMV), virus del herpes; Poxviridae (virus de la variola, virus de la vacuna, virus de la viruela), e Iridoviridae (por ejemplo, virus de la peste porcina africana) y virus sin clasificar (por ejemplo, 20 agentes etiológicos de las encefalopatías espongiformes, el agente de la hepatitis delta (que se cree que es un satélite defectuoso del virus de la hepatitis B), los agentes de la hepatitis no A, no B (clase 1 = transmitida enteralmente; clase 2 = transmitida parenteralmente (es decir, Hepatitis C); virus Norwalk y virus relacionados, y astrovirus). Algunos ejemplos de virus patógenos que causan infecciones tratables por medio de los métodos incluidos en este documento incluyen HIV, hepatitis (A, B o C), virus del herpes (por ejemplo, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II y CMV, virus de Epstein 25 Barr), adenovirus, virus de la influenza, flavivirus, ecovirus, rinovirus, virus coxsackie, comovirus, virus sincitial respiratorio, virus de paperas, rotavirus, sarampión, virus de la rubéola, parvovirus, virus de vacuna, virus HTLV, virus del dengue, virus de papiloma, virus del molusco, poliovirus, virus de la rabia, virus JC y virus de la encefalitis arboviral.

Para infecciones resultantes de causas virales, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden combinarse mediante la aplicación simultánea, previa o posterior a la aplicación de terapias estándar para el tratamiento de infecciones 30 virales. Dichas terapias estándar varían según el tipo de virus, aunque en casi todos los casos, la administración de suero humano que contiene anticuerpos (por ejemplo, IgA, IgG) específicos para el virus puede ser efectiva.

Algunos ejemplos de virus patógenos que causan infecciones tratables por métodos incluyen HIV, hepatitis (A, B o C), virus del herpes (por ejemplo, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II y CMV, virus Epstein Barr), adenovirus, virus de la influenza, 35 flavivirus, ecovirus, rinovirus, virus coxsackie, comovirus, virus sincitial respiratorio, virus de paperas, rotavirus, virus del sarampión, virus de la rubéola, parvovirus, virus de vacuna, virus HTLV, virus del dengue, virus del papiloma, virus de molusco, poliovirus, virus de la rabia, virus JC, virus de la encefalitis arboviral y virus del ébola (por ejemplo, BDBV, EBOV, RESTV, SUDV y TAFV).

En una realización, la infección es una infección por influenza. La infección por influenza puede provocar fiebre, tos, 40 mialgia, dolor de cabeza y malestar, que a menudo ocurren en epidemias estacionales. La influenza también está asociada con una serie de trastornos postinfecciosos, como encefalitis, miopericarditis, síndrome de Goodpasture y síndrome de Reye. La infección por influenza también suprime las defensas antibacterianas pulmonares normales, de modo que la recuperación de la influenza por parte del paciente tiene un mayor riesgo de desarrollar neumonía bacteriana. Las proteínas de la superficie viral de la influenza muestran una marcada variación antigénica, resultante de la mutación y la recombinación. Por lo tanto, los linfocitos T citolíticos son el vehículo principal del huésped para la 45 eliminación del virus después de la infección. La influenza se clasifica en tres tipos principales: A, B y C. La influenza A es única porque infecta tanto a los humanos como a muchos otros animales (por ejemplo, cerdos, caballos, aves y focas) y es la principal causa de influenza pandémica. Además, cuando una célula está infectada por dos cepas de influenza A diferentes, los genomas de ARN segmentados de dos tipos de virus parentales se mezclan durante la replicación para crear un replicante híbrido, lo que da como resultado nuevas cepas epidémicas. La influenza B no se replica en los animales y, por lo tanto, tiene menos variación genética y la influenza C tiene un solo serotipo. 50

La mayoría de las terapias convencionales son paliativos de los síntomas que resultan de la infección, mientras que la respuesta inmune del huésped realmente elimina la enfermedad. Sin embargo, ciertas cepas (por ejemplo, la influenza A) pueden causar enfermedades más graves y la muerte. La influenza A puede tratarse tanto clínicamente como 55 profilácticamente mediante la administración de los inhibidores de aminos cíclicas amantadina y rimantadina, que inhiben la replicación viral. Sin embargo, la utilidad clínica de estos fármacos es limitada debido a la incidencia relativamente alta de reacciones adversas, su estrecho espectro antiviral (solo influenza A) y la propensión del virus a volverse resistente. La administración de anticuerpos IgG en suero a las principales proteínas de la superficie de la influenza, hemaglutinina y neuraminidasa puede prevenir la infección pulmonar, mientras que la IgA de la mucosa es necesaria para prevenir la infección del tracto respiratorio superior y la tráquea. El tratamiento actual más efectivo para 60 la influenza es la vacunación con la administración de virus inactivados con formalina o β -propiolactona.

En otra realización, la infección es una infección por hepatitis, por ejemplo, una infección por hepatitis B o C.

El virus de la hepatitis B (HB-V) es el patógeno más infeccioso más conocido transmitido por la sangre. Es una causa importante de hepatitis aguda y crónica y carcinoma hepático, así como de infecciones crónicas de por vida. Después de la infección, el virus se replica en los hepatocitos, que también eliminan el antígeno de superficie HBsAg. La detección de niveles excesivos de HBsAg en suero se utiliza como método estándar para diagnosticar una infección por hepatitis B. Una infección aguda puede resolverse o puede convertirse en una infección crónica persistente. Los tratamientos actuales para el VHB crónico incluyen el interferón α , que aumenta la expresión del antígeno leucocitario humano (HLA) de clase I en la superficie de los hepatocitos, lo que facilita su reconocimiento por los linfocitos T citotóxicos. Además, los análogos de nucleósidos ganciclovir, famciclovir y lamivudina también han demostrado cierta eficacia en el tratamiento de la infección por HBV en ensayos clínicos. Los tratamientos adicionales para el HBV incluyen interferón alfa pegilado, adenovir, entecavir y telbivudina. Mientras que la inmunidad pasiva se puede conferir a través de la administración parental de anticuerpos séricos anti-HBsAg, la vacunación con HBsAg inactivado o recombinante también confiere resistencia a la infección. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden combinarse con tratamientos convencionales para infecciones de hepatitis B para obtener una ventaja terapéutica.

La infección por el virus de la hepatitis C (HC-V) puede conducir a una forma crónica de hepatitis, lo que resulta en cirrosis. Si bien los síntomas son similares a las infecciones resultantes de la hepatitis B, en forma diferente al HB-V, los huéspedes infectados pueden ser asintomáticos durante 10 a 20 años. La molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede administrarse como una monoterapia o combinarse con el tratamiento estándar para la infección por hepatitis C. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 puede administrarse con uno o más de Sovaldi (sofosbuvir) Olysio (simeprevir), más ribavirina o interferón pegilado. Aunque los regímenes que incluyen Incivek (telaprevir) o Victrelis (boceprevir) más ribavirina e interferón pegilado también están aprobados, se asocian con un aumento de los efectos secundarios y una mayor duración del tratamiento y, por lo tanto, no se consideran regímenes preferidos.

El tratamiento convencional para la infección por HC-V incluye la administración de una combinación de interferón α y ribavirina. Una terapia potencial prometedora para la infección por HC-V es el inhibidor de la proteasa telaprevir (VX-960). Los tratamientos adicionales incluyen: anticuerpo anti-PD-1 (MDX-1106, Medarex), bavituximab (un anticuerpo que se une al fosfolípido aniónico fosfatidilserina en una forma dependiente de la glucoproteína I B2, Peregrine Pharmaceuticals), anticuerpo o anticuerpos de la proteína E2 de recubrimiento viral anti-HPV (por ejemplo, ATL 6865-Ab68 + Ab65, XTL Pharmaceuticals) y Civacir® (inmunoglobulina humana anti-VHC policlonal). Los anticuerpos anti-PD-L1 de la descripción se pueden combinar con uno o más de estos tratamientos para las infecciones por hepatitis C para obtener una ventaja terapéutica. Los inhibidores de proteasa, polimerasa y NS5A que se pueden usar en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 para tratar específicamente la infección por Hepatitis C incluyen aquellas descritas en el documento US 2013/0045202.

En otra realización, la infección es un virus del sarampión. Después de una incubación de 9 a 11 días, los huéspedes infectados con el virus del sarampión desarrollan fiebre, tos, coriza y conjuntivitis. En 1-2 días, se desarrolla una erupción eritematosa maculopapular, que se extiende rápidamente por todo el cuerpo. Debido a que la infección también suprime la inmunidad celular, el huésped tiene un mayor riesgo de desarrollar superinfecciones bacterianas, como otitis media, neumonía y encefalomiелitis postinfecciosa. La infección aguda se asocia con una morbilidad y mortalidad significativas, especialmente en adolescentes desnutridos.

El tratamiento para el sarampión incluye la administración pasiva de IgG humana combinada, que puede prevenir la infección en sujetos no inmunes, incluso si se administra hasta una semana después de la exposición. Sin embargo, la inmunización previa con virus vivos atenuados es el tratamiento más eficaz y previene la enfermedad en más del 95% de los inmunizados. Como hay un serotipo de este virus, una sola inmunización o infección generalmente resulta en la protección de por vida contra una infección posterior.

En una pequeña proporción de huéspedes infectados, el sarampión puede convertirse en SSPE, que es un trastorno neurológico progresivo crónico que resulta de una infección persistente del sistema nervioso central. La SSPE es causada por variantes clonales del virus del sarampión con defectos que interfieren con el ensamblaje y el brote del virión. Para estos pacientes, sería deseable la reactivación de las células T con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 para facilitar el aclaramiento viral.

En otra realización, la infección es HIV. El HIV ataca a las células CD4+, incluidos los linfocitos T, los macrófagos de monocitos, las células dendríticas foliculares y las células de Langerhans, y se agotan las células auxiliares/inductoras de CD4+. Como resultado, el huésped adquiere un grave defecto en la inmunidad mediada por células. La infección con HIV produce SIDA en al menos el 50% de las personas, y se transmite por contacto sexual, administración de sangre o hemoderivados infectados, inseminación artificial con semen infectado, exposición a agujas o jeringas que contienen sangre y transmisión de una madre infectada al hijo durante el parto.

Un huésped infectado con HIV puede ser asintomático o puede desarrollar una enfermedad aguda similar a la mononucleosis: fiebre, cefalea, dolor de garganta, malestar y erupción cutánea. Los síntomas pueden progresar a una disfunción inmunitaria progresiva, que incluye fiebre persistente, sudores nocturnos, pérdida de peso, diarrea inexplicable, eccema, psoriasis, dermatitis seborreica, herpes zoster, candidiasis oral y leucoplasia vellosa oral. Las

infecciones oportunistas por una gran cantidad de parásitos son comunes en pacientes cuyas infecciones se convierten en SIDA.

Los tratamientos para el HIV incluyen terapias antivirales que incluyen análogos de nucleósidos, zidovudina (AZT) solos o en combinación con didanosina o zalcitabina, didesoxinosina, didesoxicitidina, lamivudina, estavudina; inhibidores de transcripción inversa como la delavirdina, nevirapina, lovirida e inhibidores de la proteinasa, tales como saquinavir, ritonavir, indinavir y nelfinavir. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden combinarse con tratamientos convencionales para infecciones por HIV para obtener una ventaja terapéutica.

En otra realización, la infección es un citomegalovirus (CMV). La infección por CMV a menudo se asocia con una infección persistente, latente y recurrente. El CMV infecta y permanece latente en los monocitos y en las células progenitoras de los monocitos granulocitos. Los síntomas clínicos del CMV incluyen síntomas similares a la mononucleosis (es decir, fiebre, glándulas inflamadas, malestar general) y una tendencia a desarrollar erupciones alérgicas en la piel a los antibióticos. El virus se contagia por contacto directo. El virus se elimina en la orina, la saliva, el semen y, en menor medida, en otros fluidos corporales. La transmisión también puede ocurrir de una madre infectada a su feto o recién nacido y por transfusión de sangre y trasplantes de órganos. La infección por CMV produce un deterioro general de la inmunidad celular, caracterizada por respuestas blastogénicas deterioradas a mitógenos no específicos y antígenos CMV específicos, disminución de la capacidad citotóxica y aumento del número de linfocitos CD8 de linfocitos CD4+.

Los tratamientos de la infección por CMV incluyen los antivirales ganciclovir, foscarnet y cidovir, pero estos medicamentos normalmente solo se prescriben en pacientes inmunocomprometidos. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden combinarse con tratamientos convencionales para las infecciones por citomegalovirus para obtener una ventaja terapéutica.

En otra realización, la infección es el virus de Epstein-Barr (EBV). El EBV puede establecer infecciones persistentes y latentes y principalmente ataca a las células B. La infección por EBV da como resultado el estado clínico de la mononucleosis infecciosa, que incluye fiebre, dolor de garganta, a menudo con exudado, linfadenopatía generalizada y esplenomegalia. También está presente hepatitis, que puede convertirse en ictericia.

Si bien los tratamientos típicos para las infecciones por EBV son paliativos de síntomas, el EBV se asocia con el desarrollo de ciertos cánceres tal como el linfoma de Burkitt y el cáncer de la nasofaringeo. Por lo tanto, la eliminación de la infección viral antes de que se presenten estas complicaciones sería de gran beneficio. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden combinarse con tratamientos convencionales para las infecciones por el virus de Epstein-Barr para obtener una ventaja terapéutica.

En otra realización, la infección es el virus Herpes simplex (HSV). El HSV se transmite por contacto directo con un huésped infectado. Una infección directa puede ser asintomática, pero generalmente produce ampollas que contienen partículas infecciosas. La enfermedad se manifiesta como ciclos de períodos activos de la enfermedad, en los cuales las lesiones aparecen y desaparecen a medida que el virus infecta latentemente el ganglio del nervio para los brotes subsiguientes. Las lesiones pueden estar en la cara, genitales, ojos y/o manos. En algunos casos, una infección también puede causar encefalitis.

Los tratamientos para las infecciones por herpes se dirigen principalmente a resolver los brotes sintomáticos e incluyen medicamentos antiviricos sistémicos tales como: aciclovir (por ejemplo, Zovirax®), valaciclovir, famciclovir, penciclovir y medicamentos tópicos tales como docosanol (Abreva®), tromantadina y zilactina. La eliminación de las infecciones latentes del herpes sería de gran beneficio clínico. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden combinarse con tratamientos convencionales para las infecciones por el virus del herpes para obtener una ventaja terapéutica.

En otra realización, la infección es el virus linfotrófico T humano (HTLV-1, HTLV-2). El HTLV se transmite por contacto sexual, amamantamiento o exposición a sangre contaminada. El virus activa un subconjunto de células T_H llamadas células Th1, lo que resulta en su sobreproliferación y sobreproducción de citoquinas relacionadas con Th1 (por ejemplo, IFN- γ y TNF- α). Esto a su vez da como resultado la supresión de los linfocitos Th2 y la reducción de la producción de citoquinas Th2 (por ejemplo, IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13), lo que causa una reducción en la capacidad de un huésped infectado para montar una respuesta inmune adecuada a organismos invasores que requieren una respuesta dependiente de Th2 para la eliminación (por ejemplo, infecciones parasitarias, producción de anticuerpos mucosos y humorales).

Las infecciones por HTLV causan infecciones oportunistas que producen bronquiectasias, dermatitis y superinfecciones con *Staphylococcus* spp. y *Strongyloides* spp. resultando en muerte por sepsis polimicrobiana. La infección por HTLV también puede conducir directamente a leucemia/linfoma de células T adultas y a la enfermedad de neuronas motoras superiores desmielinizante progresiva conocida como HAM/TSP. La eliminación de las infecciones latentes por HTLV sería de gran beneficio clínico. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden combinarse con tratamientos convencionales para las infecciones por HTLV para obtener una ventaja terapéutica.

En otra realización, la infección es el virus del papiloma humano (HPV). El HPV afecta principalmente a los queratinocitos y se presenta en dos formas: cutánea y genital. Se cree que la transmisión se produce a través del contacto directo y/o la actividad sexual. Tanto la infección cutánea como genital por el HPV pueden provocar verrugas,

infecciones latentes y, a veces, infecciones recurrentes, que están controladas por la inmunidad del huésped, que controla los síntomas y bloquea la aparición de las verrugas, pero deja al huésped capaz de transmitir la infección a otros.

5 La infección con HPV también puede conducir a ciertos cánceres, como el cáncer cervical, anal, vulvar, peneal y orofaríngeo. No hay curas conocidas para la infección por HPV, pero el tratamiento actual es la aplicación tópica de imiquimod, que estimula el sistema inmunológico para atacar el área afectada. La eliminación de infecciones latentes por HPV sería de gran beneficio clínico. Los anticuerpos anti-TIM-3 de la divulgación se pueden combinar con tratamientos convencionales para infecciones por HPV para obtener una ventaja terapéutica.

10 En otra realización, la infección es el virus del Ébola (EBOV). El EBOV es uno de los cinco virus conocidos dentro del género del virus del Ébola. El EBOV causa fiebre hemorrágica severa y con frecuencia fatal en humanos y mamíferos, conocida como la enfermedad del virus de Ébola (EVD). La transmisión se produce a través del contacto con sangre, secreciones, órganos u otros fluidos corporales de pacientes infectados. Actualmente, no existe un tratamiento o vacuna comprobado.

Infecciones bacterianas

15 Las bacterias incluyen bacterias tanto Gram negativas como Gram positivas. Los ejemplos de bacterias Gram positivas incluyen, pero no se limitan a, especie *Pasteurella*, especies *Staphylococci* y la especie *Streptococcus*. Los ejemplos de bacterias Gram negativas incluyen, pero no se limitan a, *Escherichia coli*, especies de *Pseudomonas* y especies *Salmonella*. Los ejemplos específicos de bacterias infecciosas incluyen, pero no se limita a, *Helicobacter pylori*, *Borrelia burgdorferi*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacteria* spp. (por ejemplo, *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M.*
20 *intracellulare*, *M. kansasii*, *M. gordonae*), *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* del Grupo A), *Streptococcus agalactiae* (*Streptococcus* del Grupo B), *Streptococcus* (grupo viridans), *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus* (spp. anaerobia), *Streptococcus pneumoniae*, *Campylobacter* spp., patógena *Enterococcus* spp., *Haemophilus influenzae*, *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium* spp., *Erysipelothrix*
25 *rhusiopathiae*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Streptobacillus moniliformis*, *Treponema pallidum*, *Treponema pertenue*, *Leptospira*, *Mycobacterium leprae*, *Rickettsia*, y *Actinomyces israelii*. Algunos ejemplos de bacterias patógenas que causan infecciones que se pueden tratar con los métodos incluidos en el presente documento incluyen:
30 clamidia, bacterias rickettsiales, micobacterias, estafilococos, estreptococos, neumococos, meningococos y conococos, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Legionella*, difteria, salmonella, bacilos, cólera, tétanos, botulismo, ántrax, plaga, leptospirosis y bacterias de la enfermedad de Lyme.

Algunos ejemplos de bacterias patógenas que causan infecciones tratables por los métodos de la descripción incluyen sífilis, clamidia, bacterias rickettsiales, micobacterias, estafilococos, estreptococos, neumococos, meningococos y conococos, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Legionella*, difteria, salmonella, bacilos, cólera, tétanos,
35 botulismo, ántrax, plaga, leptospirosis y bacterias de la enfermedad de Lyme. Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden usarse en combinación con las modalidades de tratamiento existentes para las infecciones mencionadas. Por ejemplo, los tratamientos para la sífilis incluyen penicilina (por ejemplo, Penicilina G), tetraciclina, doxiciclina, ceftriaxona y azitromicina.

La enfermedad de Lyme, causada por *Borrelia burgdorferi*, se transmite a los humanos a través de las picaduras de garrapatas. La enfermedad se manifiesta inicialmente como una erupción localizada, seguida de síntomas similares a los de la gripe, que incluyen malestar general, fiebre, dolor de cabeza, cuello rígido y artralgias. Las manifestaciones posteriores pueden incluir artritis migratoria y poliarticular, compromiso neurológico y cardíaco con parálisis de nervios craneales y radiculopatía, miocarditis y arritmias. Algunos casos de enfermedad de Lyme se vuelven persistentes, lo que resulta en un daño irreversible análogo a la sífilis terciaria. La terapia actual para la enfermedad de Lyme incluye principalmente la administración de antibióticos. Las cepas resistentes a los antibióticos pueden tratarse con hidroxicloroquina o metotrexato. Los pacientes refractarios a antibióticos con dolor neuropático pueden tratarse con gabapentina. La minociclina puede ser útil en la enfermedad de Lyme tardía/crónica con manifestaciones neurológicas u otras manifestaciones inflamatorias.

Otras formas de borreliosis, tales como aquellas resultantes de *B. recurrentis*, *B. hermsii*, *B. turicatae*, *B. parkeri*, *B. hispanica*, *B. duttonii* y *B. persica*, así como la leptospirosis (por ejemplo, *L. interrogans*), generalmente se resuelven espontáneamente a menos que los niveles en sangre alcancen concentraciones que provoquen una obstrucción intrahepática.

Hongos y parásitos

55 Los ejemplos de hongos incluyen: *Aspergillus* spp., *Blastomyces dermatitidis*, *Candida albicans*, otras *Candida* spp., *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Chlamydia trachomatis*, *Nocardia* spp., *Pneumocystis carinii*. Algunos ejemplos de hongos patógenos que causan infecciones tratables por los métodos del presente documento incluyen *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis*, etc.), *Cryptococcus neoformans*,

Aspergillus (fumigatus, niger, etc.), Género Mucorales (mucor, absidia, rhizophus), *Sporothrix schenkii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* e *Histoplasma capsulatum*.

Los parásitos incluyen, pero no se limitan a, parásitos transmitidos por la sangre y/o tejidos tales como *Babesia microti*, *Babesia divergens*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Leishmania tropica*, *Leishmania spp.*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, y *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma gambiense* y *Trypanosoma rhodesiense* (enfermedad Africana del sueño), *Trypanosoma cruzi* (enfermedad de Chagas), y *Toxoplasma gondii*, gusanos planos, gusanos redondos. Algunos ejemplos de parásitos patógenos que causan infecciones que se pueden tratar con los métodos de la presente invención incluyen *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba sp.*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium sp.*, *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*, y *Nippostrongylus brasiliensis*.

Algunos ejemplos de hongos patógenos que causan infecciones tratables por los métodos de la descripción incluyen *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis*, etc.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, etc.), Género Mucorales (*mucor*, *absidia*, *rhizophus*), *Sporothrix schenkii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* y *Histoplasma capsulatum*.

Algunos ejemplos de parásitos patógenos que causan infecciones que pueden ser tratadas por los métodos descritos en este documento incluyen *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba sp.*, *Giardia lamblia*, *donovani*, *Toxoplasma gondii* y *Nippostrongylus brasiliensis*.

En algunas realizaciones, la enfermedad infecciosa se elige de hepatitis (por ejemplo, infección por hepatitis C) o sepsis.

En todos los métodos anteriores, la terapia con la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 se puede combinar con otras formas de inmunoterapia, tales como el tratamiento con citoquinas (por ejemplo, interferones, GM-CSF, G-CSF, IL-2, IL-21), o terapia con anticuerpos biespecíficos, que proporciona una presentación mejorada de antígenos tumorales (véase, por ejemplo, Holliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 90: 6444-6448; Poljak (1994) Structure 2: 1121-1123).

Los métodos de administración de diversas moléculas de anticuerpo son conocidos en la técnica y se describen a continuación. Las dosis adecuadas de las moléculas de anticuerpo utilizadas dependerán de la edad y el peso del sujeto y del fármaco particular utilizado. Las moléculas de anticuerpo pueden usarse como agentes competitivos para la unión de ligandos para inhibir o reducir una interacción indeseable.

Las moléculas de anticuerpo pueden usarse por sí mismas o conjugarse con un segundo agente, por ejemplo, un fármaco citotóxico, radioisótopo o una proteína, por ejemplo, una toxina proteica o una proteína viral. Este método incluye: administrar la molécula de anticuerpo, sola o conjugada con un fármaco citotóxico, a un sujeto que requiera tal tratamiento. Las moléculas de anticuerpo pueden usarse para administrar una variedad de agentes terapéuticos, por ejemplo, una fracción citotóxica, por ejemplo, un fármaco terapéutico, un radioisótopo, moléculas de origen vegetal, fúngico o bacteriano, o proteínas biológicas (por ejemplo, toxinas proteicas) o partículas (por ejemplo, partículas virales recombinantes, por ejemplo, a través de una proteína de cubierta viral), o mezclas de las mismas.

Terapias Combinadas Adicionales

Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden usarse en combinación con otras terapias. Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 formulada conjuntamente con y/o administrada conjuntamente con uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, uno o más agentes anticancerosos, citotóxicos o citostáticos, tratamiento hormonal, vacunas y/u otras inmunoterapias. En otras realizaciones, las moléculas de anticuerpo se administran en combinación con otras modalidades de tratamiento terapéutico, que incluyen cirugía, radiación, criocirugía y/o termoterapia. Dicha combinación de terapias pueden utilizar ventajosamente dosis más bajas de los agentes terapéuticos administrados, evitando así posibles toxicidades o complicaciones asociadas con las diversas monoterapias.

Administrado "en combinación", como se usa en este documento, significa que dos (o más) tratamientos diferentes se administran al sujeto durante el curso de la afección del sujeto con el trastorno, por ejemplo, los dos o más tratamientos se administran después de que el sujeto ha sido diagnosticado con el trastorno y antes de que el trastorno haya sido curado o eliminado. En algunas realizaciones, la administración de un tratamiento aún ocurre cuando comienza la administración del segundo, de modo que hay una superposición. Esto se refiere a veces en el presente documento como "administración simultánea" o "concurrente". En otras realizaciones, la administración de un tratamiento finaliza antes de que comience la administración del otro tratamiento. En algunas realizaciones de cualquiera de los casos, el tratamiento es más efectivo debido a la administración combinada. Por ejemplo, el segundo tratamiento es más efectivo, por ejemplo, se observa un efecto equivalente con menos del segundo tratamiento, o el segundo tratamiento reduce los síntomas en mayor medida, de lo que se observaría si el segundo tratamiento se administrara en ausencia del primer tratamiento, o la situación análoga se observa con el primer tratamiento. En algunas realizaciones, el suministro es tal que la reducción en un síntoma u otro parámetro relacionado con el trastorno es mayor que lo que se observaría con un tratamiento administrado en ausencia del otro. El efecto de los dos tratamientos puede ser

parcialmente aditivo, totalmente aditivo o mayor que aditivo. La administración puede ser tal que un efecto del primer tratamiento suministrado todavía sea detectable cuando se administra el segundo.

Las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 pueden administrarse en combinación con una o más de las modalidades existentes para el tratamiento de cánceres, que incluyen, pero no se limitan a: cirugía; radioterapia (por ejemplo, terapia de haz externo que involucra radioterapia conformacional tridimensional, en la que se diseña el campo de radiación).

En ciertos aspectos, el anticuerpo anti-TIM-3 se coadministra con un segundo agente que actúa sobre TIM-3 u otro elemento de una vía TIM-3.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando se trata una enfermedad infecciosa, el anticuerpo anti-TIM-3 se puede coadministrar, por ejemplo, con un antibiótico, un agente antiviral o un agente antifúngico.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando se trata la enfermedad de Crohn, el anticuerpo anti-TIM-3 se puede coadministrar con, por ejemplo, un medicamento antiinflamatorio tal como el ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), prednisona o hidrocortisona; análogos de purina tales como azatioprina; antimetabolitos tales como metotrexato; inhibidores de TNF-alfa, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal para el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), por ejemplo, infliximab, adalimumab o certolizumab; o inhibidores de integrina, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal para integrina alfa-4, por ejemplo, natalizumab.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando se trata la esclerosis múltiple, el anticuerpo anti-TIM-3 se puede coadministrar con, por ejemplo, un interferón tal como interferón beta-1a, interferón beta-1b, un análogo de interferón, un polímero de amino aleatorio, tal como acetato de glatirámico; un inhibidor de topoisomerasa tipo II, tal como la mitoxantrona; un inhibidor de integrina, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal para la integrina alfa-4, por ejemplo, natalizumab; un modulador del receptor de esfingosina 1-fosfato, por ejemplo, fingolimod; un inhibidor de la síntesis de pirimidinas, por ejemplo, un inhibidor de dihidroorotato deshidrogenasa tal como teriflunomida; y otros agentes inmunomoduladores tales como dimetil fumarato.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando se trata la sepsis, el anticuerpo anti-TIM-3 puede coadministrarse con, por ejemplo, antibióticos, vasopresores tales como norepinefrina o dopamina; esteroides; proteína C activada recombinante (drotrecogina alfa); líquidos intravenosos; y ventilación.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando se trata SIRS (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica), el anticuerpo anti-TIM-3 puede administrarse conjuntamente, por ejemplo, antibióticos esteroides antioxidantes; o fluidos intravenosos.

En algunas realizaciones, por ejemplo, cuando se trata la glomerulonefritis, el anticuerpo anti-TIM-3 puede coadministrarse con, por ejemplo, esteroides; un agente de alquilación tal como ciclofosfamida; o un análogo de purina tal como azatioprina.

Las combinaciones de moléculas de anticuerpo TIM-3 con una o más compuestos terapéuticos secundarios se proporcionan en este documento. Muchas de las combinaciones en esta sección son útiles para tratar el cáncer, pero también se describen otras indicaciones. Esta sección se centra en combinaciones de moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, opcionalmente en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores (por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-PD-1, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3 o una molécula de anticuerpo anti-PD-L1), con uno o más de los agentes descritos en la Tabla 6. En las combinaciones en el presente documento a continuación, en una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3 comprende (i) una región variable de la cadena pesada (VH) que comprende una secuencia aminoácidos de VHCDR1 elegida de la SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 30, o SEQ ID NO: 31; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y (ii) una región variable de la cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6 o la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 13, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8 o la SEQ ID NO: 14.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de PKC, sotrastaurina (compuesto A1), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2005/039549, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de PKC se describe en la Tabla 6, o en una publicación citada en la Tabla 6, por ejemplo, en la fila A1 de la Tabla 6. En una realización, el inhibidor de PKC es sotrastaurina (compuesto A1) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2005/039549. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con sotrastaurina (compuesto A1), o un compuesto como se describe en la publicación PCT No. WO 2005/039549, para tratar un trastorno como un cáncer, un melanoma, un Linfoma de no-Hodgkin, enfermedad inflamatoria intestinal, rechazo del trasplante, trastorno oftálmico o psoriasis.

En ciertas realizaciones, la sotrastaurina (compuesto A1) se administra a una dosis de aproximadamente 20 a 600 mg, por ejemplo, aproximadamente 200 a aproximadamente 600 mg, aproximadamente 50 mg a aproximadamente

450 mg, aproximadamente 100 mg a 400 mg, aproximadamente 150 mg a 350 mg, o aproximadamente 200 mg a 300 mg, por ejemplo, aproximadamente 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg o 600 mg. El cronograma de dosificación puede variar, por ejemplo, cada dos días a diariamente, dos o tres veces al día.

En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de BCR-ABL, TASIGNA (compuesto A2), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2004/005281, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de BCR-ABL es TASIGNA, o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2004/005281. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con TASIGNA (compuesto A2), o un compuesto como se describe en la publicación PCT No. WO 2004/005281, para tratar un trastorno tal como leucemia linfocítica, enfermedad de Parkinson, un cáncer neurológico, un melanoma, un cáncer digestivo/gastrointestinal, un cáncer colorrectal, una leucemia mieloide, un cáncer de cabeza y cuello o hipertensión pulmonar.

En una realización, el inhibidor de BCR-ABL o TASIGNA se administra a una dosis de aproximadamente 300 mg (por ejemplo, dos veces al día, por ejemplo, para Ph+ CML-CP recién diagnosticado), o aproximadamente 400 mg, por ejemplo, dos veces al día, por ejemplo, para Ph+ CML-CP y CML-AP resistente o intolerante). El inhibidor de BCR-ABL o un compuesto A2 se administra en una dosis de aproximadamente 300-400 mg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de HSP90, tal como 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-N-etil-4-(4-(morfolinometil)fenil)isoxazol-3-carboxamida (compuesto A3), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/060937 o WO 2004/072051, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en este documento. En una realización, el inhibidor de HSP90 es 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-N-etil-4-(4-(morfolinil)fenil)isoxazol-3-carboxamida (compuesto A3), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/060937 o WO 2004/072051. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con 5-(2,4-dihidroxi-5-isopropilfenil)-N-etil-4-(4-(morfolinometil) fenil)isoxazol-3-carboxamida (compuesto A3), o un compuesto como se describe en la publicación PCT No. WO 2010/060937 o WO 2004/072051, para tratar un trastorno tal como un cáncer, un mieloma múltiple, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un linfoma, un cáncer gástrico, un cáncer de mama, un cáncer digestivo/gastrointestinal, un cáncer de páncreas, un cáncer colorrectal, un tumor sólido o un trastorno de hematopoyesis.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de PI3K y/o mTOR, Dactolisib (compuesto A4) o 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluoro metilfenil)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (compuesto A41), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2006/122806, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de PI3K y/o mTOR es Dactolisib (compuesto A4), 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluorometil)-fenil)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c]quinolin-2-ona (compuesto A41), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2006/122806. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Dactolisib (compuesto A4), 8-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-1-(4-piperazin-1-il-3-trifluorometil-fenil)-1,3-dihidro-imidazo[4,5-c] quinolin-2-ona (compuesto A41), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2006/122806, para tratar un trastorno tal como cáncer, cáncer de próstata, leucemia (por ejemplo, leucemia linfocítica), un cáncer de mama, un cáncer de cerebro, un cáncer de vejiga, un cáncer de páncreas, un cáncer de riñón, un tumor sólido o un cáncer de hígado.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de FGFR. 3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-(6-((4-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)amino)pirimidin-4-il)-1-metilurea (compuesto A5) o un compuesto descrito en la patente de Estados Unidos No. 8.552.002, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de FGFR es 3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-(6-((4-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)amino)pirimidin-4-il)-1-metilurea (compuesto A5) o un compuesto descrito en la Patente de Estados Unidos 8,552,002. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con el Compuesto A5, o un compuesto como se describe en la patente de Estados Unidos No. 8,552,002, para tratar un trastorno tal como un cáncer digestivo/gastrointestinal, un cáncer hematológico o un tumor sólido.

En una realización, el inhibidor de FGFR o 3-(2,6-dicloro-3,5-dimetoxifenil)-1-(6-((4-(4-etilpiperazin-1-il)fenil)amino)pirimidin-4-il)-1-metilurea (compuesto A5) se administra a una dosis de aproximadamente 100-125 mg (por ejemplo, por día), por ejemplo, aproximadamente 100 mg o aproximadamente 125 mg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de PI3K. Buparlisib (compuesto A6), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/084786, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de PI3K es Buparlisib (compuesto A6) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO

2007/084786. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Buparlisib (compuesto A6), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/084786, para tratar un trastorno tal como, un cáncer de próstata, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer endocrino, una leucemia, un cáncer de ovario, un melanoma, un cáncer de vejiga, un cáncer de mama, un cáncer del sistema reproductivo femenino, un cáncer digestivo/gastrointestinal, un cáncer colorrectal, un glioblastoma multiforme, un tumor sólido, un linfoma no Hodgkin, un trastorno de hematopoyesis o un cáncer de cabeza y cuello.

En una realización, el inhibidor de PI3K o Buparlisib (compuesto A6) se administra a una dosis de aproximadamente 100 mg (por ejemplo, por día).

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de los inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de FGFR, 8-(2,6-difluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(4-((dimetilamino)metil)-1H-imidazol-2-il)quinoxalin-5-carboxamida (compuesto A7) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2009/141386 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de FGFR es 8-(2,6-difluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(4-((dimetilamino)metil)-1H-imidazol-2-il)quinoxalin-5-carboxamida (compuesto A7) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2009/141386. En una realización, el inhibidor de FGFR es 8-(2,6-difluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(4-((dimetilamino)metil)-1H-imidazol-2-il)quinoxalin-5-carboxamida (compuesto A7). En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con 8-(2,6-difluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(4-((dimetilamino)metil)-1H-imidazol-2-il)quinoxalin-5-carboxamida (compuesto A7), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2009/141386, para tratar un trastorno tal como un cáncer caracterizado por angiogénesis.

En una realización, el inhibidor de FGFR o 8-(2,6-difluoro-3,5-dimetoxifenil)-N-(4-((dimetilamino)metil)-1H-imidazol-2-il)quinoxalin-5-carboxamida (compuesto A7) se administra a una dosis de, por ejemplo, de aproximadamente 3 mg a aproximadamente 5 g, más preferiblemente de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 1,5 g por persona por día, opcionalmente dividida en 1 a 3 dosis individuales que pueden, por ejemplo, ser del mismo tamaño.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de PI3K. (S)-N1-(4-metil-5-(2-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)piridin-4-il)tiazol-2-il)pirrolidin-1,2-dicarboxamida (compuesto A8) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/029082 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de PI3K es (S)-N1-(4-metil-5-(2-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)piridin-4-il)tiazol-2-il)pirrolidin-1,2-dicarboxamida (compuesto A8) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/029082. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con (S)-N1-(4-metil-5-(2-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)piridin-4-il)tiazol-2-il)pirrolidin-1,2-dicarboxamida (compuesto A8), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/029082, para tratar un trastorno tal como un cáncer gástrico, un cáncer de mama, un cáncer de páncreas, un cáncer digestivo/gastrointestinal, un tumor sólido y un cáncer de cabeza y cuello.

En una realización, el inhibidor de PI3K o (S)-N1-(4-metil-5-(2-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)piridin-4-il)tiazol-2-il)pirrolidin-1,2-dicarboxamida (compuesto A8) se administra a una dosis de aproximadamente 150-300, 200-300, 200-400 o 300-400 mg (por ejemplo, por día), por ejemplo, aproximadamente de 200, 300 o 400 mg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor del citocromo P450 (por ejemplo, un inhibidor de CYP17) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/149755, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor del citocromo P450 (por ejemplo, el inhibidor de CYP17) es un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/149755. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/149755, para tratar el cáncer de próstata.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de HDM2. (S)-1-(4-clorofenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-(metil(((1r, 4S)-4-(4-metil-3-oxopiperazin-1-il)ciclohexil)metil)amino)fenil)-1,2-dihidroisoquinolin-3(4H)-ona (compuesto A10) o un compuesto descrito en la publicación PCT número WO 2011/076786 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en este documento). En una realización, el inhibidor de HDM2 es (S)-1-(4-clorofenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-(metil(((1r, 4S)-4-(4-metil-3-oxopiperazin-1-il)ciclohexil)metil)amino)fenil)-1,2-dihidroisoquinolin-3(4H)-ona (compuesto A10) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/076786. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con (S)-1-(4-clorofenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-(metil(((1r, 4S)-4-(4-metil-3-oxopiperazin-1-il)ciclohexil)metil)amino)fenil)-1,2-dihidroisoquinolin-3(4H)-ona (compuesto A10), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/076786, para tratar un trastorno tal como un tumor sólido.

En una realización, el inhibidor de HDM2 o (S)-1-(4-clorofenil)-7-isopropoxi-6-metoxi-2-(4-(metil(((1r, 4S)-4-(4-metil-3-oxopiperazin-1-il)ciclohexil)metil)amino)fenil)-1,2-dihidroisoquinolin-3(4H)-ona (compuesto A10) se administra a una

dosis de aproximadamente 400 a 700 mg, por ejemplo, administrado tres veces por semana, durante 2 semanas y una semana de descanso. En algunas realizaciones, la dosis es de aproximadamente 400, 500, 600 o 700 mg; aproximadamente 400-500, 500-600 o 600-700 mg, por ejemplo, administrados tres veces por semana.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un agente quelante de hierro, Deferasirox (también conocido como EXJADE; compuesto A11), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 1997/049395 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el agente quelante de hierro es Deferasirox o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 1997/049395. En una realización, el agente quelante de hierro es Deferasirox (compuesto A11). En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Deferasirox (compuesto A11), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 1997/049395, para tratar la sobrecarga de hierro, la hemocromatosis o la mielodisplasia.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de la aromatasa, Letrozol (también conocido como FEMARA; compuesto A12), o un compuesto descrito en el documento US 4,978,672 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de la aromatasa es letrozol (compuesto A12) o un compuesto descrito en la patente de Estados Unidos No. 4,978,672. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Letrozol (compuesto A12), o un compuesto descrito en la patente de Estados Unidos No. 4,978,672, para tratar un trastorno tal como un cáncer, un leiomiomasarcoma, un cáncer de endometrio, un cáncer de mama, un cáncer del sistema reproductor femenino, o una deficiencia hormonal.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de PI3K, por ejemplo, un inhibidor de pan-PI3K, (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-4-(hidroximetil)-5-metiloxazolidin-2-ona (compuesto A13) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/124826 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en este documento. En una realización, el inhibidor de PI3K es (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-4-(hidroximetil)-5-metiloxazolidin-2-ona (compuesto A13) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/124826. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con (4S,5R)-3-(2'-amino-2-morfolino-4'-(trifluorometil)-[4,5'-bipirimidin]-6-il)-4-(hidroximetil)-5-metiloxazolidin-2-ona (compuesto A13), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/124826, para tratar un trastorno tal como un cáncer o un tumor sólido avanzado.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de p53 y/o una interacción de p53/Mdm2, (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidropirrol-3,4-d]imidazol-4(1H)-ona (compuesto A14), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/111105 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de p53 y/o una interacción de p53/Mdm2 es (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidropirrol-3,4-d]imidazol-4(1H)-ona (compuesto A14) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/111105. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con (S)-5-(5-cloro-1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)-6-(4-clorofenil)-2-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)-1-isopropil-5,6-dihidropirrol-3,4-d]imidazol-4(1H)-ona (compuesto A14), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/111105, para tratar un trastorno tal como un cáncer o un sarcoma de tejidos blandos.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de tirosina quinasa CSF-1R, 4-((2-(((1R,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)benzo[d]tiazol-6-il)oxi)-N-metilpicolinamida (compuesto A15), o un compuesto descrito en PCT publicación No. WO 2005/073224 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de tirosina quinasa CSF-1R es 4-((2-(((1R,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)benzo[d]tiazol-6-il)oxi)-N-metilpicolinamida (compuesto A15) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2005/073224. En una realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, se usa en combinación con 4-((2-(((1R,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)benzo[d]tiazol-6-il)oxi)-N-metilpicolinamida (compuesto A15) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2005/073224, para tratar un trastorno tal como el cáncer.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inductor de apoptosis y/o un inhibidor de la angiogénesis, tal como el mesilato de imatinib (también conocido como GLEEVEC; compuesto A16) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 1999/003854 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito. En una realización, el inductor de apoptosis y/o un inhibidor de la angiogénesis es el mesilato de imatinib (compuesto A16) o un compuesto descrito en la publicación PCT No.

WO 1999/003854. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con mesilato de imatinib (compuesto A16), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 1999/003854, para tratar un trastorno tal como un cáncer, un mieloma múltiple, una próstata cáncer, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un linfoma, un cáncer gástrico, un melanoma, un cáncer de mama, un cáncer de páncreas, un cáncer digestivo/gastrointestinal, un cáncer colorrectal, un glioblastoma multiforme, un cáncer de hígado, un cáncer de cabeza y cuello, asma, esclerosis múltiple, alergia, demencia de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica o artritis reumatoide.

En ciertas realizaciones, se administra mesilato de imatinib (Compuesto A16) a una dosis de aproximadamente 100 a 1000 mg, por ejemplo, aproximadamente 200 mg a 800 mg, aproximadamente 300 mg a 700 mg, o aproximadamente 400 mg a 600 mg, por ejemplo, aproximadamente 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg o 700 mg. El cronograma de dosificación puede variar de, por ejemplo, cada dos días a diariamente, dos o tres veces al día. En una realización, se administra mesilato de imatinib a una dosis oral de aproximadamente 100 mg a 600 mg al día, por ejemplo, aproximadamente 100 mg, 200 mg, 260 mg, 300 mg, 400 mg o 600 mg por día.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de JAK, 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4] triazin-2-il)benzamida (compuesto A17), o una sal diclorhidrato de la misma, o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/070514, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de JAK es 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (compuesto A17), o una sal diclorhidrato de la misma, o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/070514. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con 2-fluoro-N-metil-4-7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (compuesto A17), o una sal diclorhidrato de la misma, o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/070514, para tratar un trastorno tal como el cáncer colorrectal, la leucemia mieloide, el cáncer hematológico, la enfermedad autoinmune, Linfoma no Hodgkin o trombocitemia.

En una realización, el inhibidor de JAK o una 2-fluoro-N-metil-4-(7-(quinolin-6-ilmetil)imidazo[1,2-b][1,2,4]triazin-2-il)benzamida (compuesto A17), o una sal diclorhidrato de la misma, se administra en una dosis de aproximadamente 400-600 mg (por ejemplo, por día), por ejemplo, aproximadamente 400, 500 o 600 mg, o aproximadamente 400-500 o 500-600 mg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de JAK, fosfato de Ruxolitinib (también conocido como JAKAFI; compuesto A18) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/070514 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de JAK es fosfato de Ruxolitinib (compuesto A18) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/070514. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con fosfato de Ruxolitinib (compuesto A18), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/070514, para tratar un trastorno tal como un cáncer de próstata, una leucemia linfocítica, un mieloma múltiple, un linfoma, un cáncer de pulmón, una leucemia, caquexia, un cáncer de mama, un cáncer de páncreas, una artritis reumatoide, una psoriasis, un cáncer colorrectal, una leucemia mieloide, un cáncer hematológico, una enfermedad autoinmune, un linfoma no Hodgkin, o trombocitemia.

En una realización, el inhibidor de JAK o fosfato de Ruxolitinib (compuesto A18) se administra a una dosis de aproximadamente 15-25 mg, por ejemplo, dos veces al día. En algunas realizaciones, la dosis es aproximadamente 15, 20 o 25 mg, o aproximadamente 15-20 o 20-25 mg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de desacetilasa (DAC), Panobinostat (compuesto A19), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/072493 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de DAC es Panobinostat (compuesto A19) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/072493. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Panobinostat (compuesto A19), un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/072493, para tratar un trastorno tal como un cáncer de pulmón de células pequeñas, un cáncer respiratorio/torácico, un cáncer de próstata, un mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico, un cáncer óseo, un cáncer de pulmón no microcítico, un cáncer endocrino, linfoma, un cáncer neurológico, leucemia, HIV/SIDA, un trastorno inmunológico, un rechazo de trasplantes, un cáncer gástrico, un melanoma, un cáncer de mama, un cáncer de páncreas, un cáncer colorrectal, un glioblastoma multiforme, una leucemia mieloide, un cáncer hematológico, un cáncer renal, un linfoma no Hodgkin, un cáncer de cabeza y cuello, desordenes hematopoyéticos, o un cáncer de hígado.

En una realización, el inhibidor de DAC o Panobinostat (compuesto A19) se administra a una dosis de aproximadamente 20 mg (por ejemplo, por día).

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en

combinación con un inhibidor de uno o más del citocromo P450 (por ejemplo, 11B2), aldosterona o angiogénesis, Osilodrostat (compuesto A20), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/024945 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de uno o más del citocromo P450 (por ejemplo, 11B2), aldosterona o angiogénesis es Osilodrostat (compuesto A20) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/024945. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Osilodrostat (compuesto A20), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/024945, para tratar un trastorno tal como el síndrome de Cushing, hipertensión o terapia de insuficiencia cardíaca.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de IAP, (S)-N-((S)-1-ciclohexil-2-((S)-2-(4-(4-fluorobenzoyl)thiazol-2-il)pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-2-(metilamino)propanamida (compuesto A21) o un compuesto descrito en el documento US 8,552,003 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en este documento. En una realización, el inhibidor de IAP es (S)-N-((S)-1-ciclohexil-2-((S)-2-(4-(4-fluorobenzoyl)thiazol-2-il)pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-2-(metilamino)propanamida (compuesto A21) o un compuesto descrito en la patente de Estados Unidos No. 8,552,003. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con (S)-N-((S)-1-ciclohexil-2-((S)-2-(4-(4-fluorobenzoyl)thiazol-2-il)pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-2-(metilamino)propanamida (compuesto A21), o un compuesto descrito en la patente de Estados Unidos No. 8,552,003, para tratar un trastorno tal como un mieloma múltiple, un cáncer de mama, un cáncer de ovario, un cáncer de páncreas o un trastorno hematopoyético.

En una realización, el inhibidor de IAP o (S)-N-((S)-1-ciclohexil-2-((S)-2-(4-(4-fluorobenzoyl)thiazol-2-il)pirrolidina-1-il)-2-oxoetil)-2-(metilamino)propanamida (compuesto A21) o un compuesto descrito en el documento US 8,552,003 se administra a una dosis de aproximadamente 1800 mg, por ejemplo, una vez a la semana.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de Smoothened (SMO), fosfato de Sonidegib (compuesto A22), (R)-2-(5-(4-(6-bencil-4,5-dimetilpiridazin-3-il)-2-metilpiperazin-1-il)pirazin-2-il)propan-2-ol (compuesto A25), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/131201 o WO 2010/007120 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en este documento. En una realización, el inhibidor de SMO es fosfato de Sonidegib (compuesto A22), (R)-2-(5-(4-(6-bencil-4,5-dimetilpiridazin-3-il)-2-metilpiperazin-1-il)pirazin-2-il)propan-2-ol (compuesto A25), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/131201 o WO 2010/007120. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con fosfato de Sonidegib (compuesto A22), (R)-2-(5-(4-(6-bencil-4,5-dimetilpiridazin-3-il)-2-metilpiperazin-1-il)pirazin-2-il)propan-2-ol (compuesto A25), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/131201 o WO 2010/007120 para tratar un trastorno tal como el cáncer, un meduloblastoma, un cáncer de pulmón de células pequeñas, un cáncer de próstata, un carcinoma de células basales, un cáncer de páncreas o una inflamación.

En ciertas realizaciones, el fosfato de Sonidegib (compuesto A22) se administra a una dosis de aproximadamente 20 a 500 mg, por ejemplo, aproximadamente 40 mg a 400 mg, aproximadamente 50 mg a 300 mg, o aproximadamente 100 mg a 200 mg, por ejemplo, aproximadamente 50 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg o 300 mg. El cronograma de dosificación puede variar, por ejemplo, de cada dos días a diariamente, dos o tres veces al día.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de Alk, ceritinib (también conocido como ZYKADIA; compuesto A23) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/131201 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de Alk es ceritinib (compuesto A23) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/131201. En una realización, se usa una molécula de anticuerpo TIM-3 en combinación con ceritinib (compuesto A23), o un compuesto descrito en la publicación PCT número WO 2007/131201, para tratar un trastorno tal como cáncer de pulmón de células no pequeñas o tumores sólidos.

En una realización, el inhibidor de Alk o ceritinib (compuesto A23) se administra a una dosis de aproximadamente 750 mg, por ejemplo, una vez al día.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de JAK y/o CDK4/6, 7-ciclopentil-N,N-dimetil-2-((5-(piperazin-1-il)piridin-2-il)amino)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida (compuesto A24), o un compuesto descrito en la patente de Estados Unidos No. 8,415,355 o la patente de Estados Unidos No. 8,685,980 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de JAK y/o CDK4/6 es 7-ciclopentil-N,N-dimetil-2-((5-(piperazin-1-il)piridin-2-il)amino)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida (compuesto A24) o un compuesto descrito en la patente de Estados Unidos No. 8,415,355 o la patente de Estados Unidos No. 8,685,980. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con 7-ciclopentil-N,N-dimetil-2-((5-(piperazin-1-il)piridin-2-il)amino)-7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida (compuesto A24), o un compuesto descrito en los documentos US

8,415,355 o US 8,685,980, para tratar un trastorno como un linfoma, un cáncer neurológico, un melanoma, un cáncer de mama o un tumor sólido.

En una realización, el inhibidor de JAK y/o CDK4/6 o 7-ciclopentil-N,N-dimetil-2-((5-(piperazin-1-il)piridin-2-il)amino)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida (compuesto A24) se administra a una dosis de aproximadamente 200-600 mg, por ejemplo, por día. En una realización, el compuesto se administra a una dosis de aproximadamente 200, 300, 400, 500 o 600 mg, o aproximadamente 200-300, 300-400, 400-500 o 500-600 mg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor del receptor de prolactina (PRLR), una molécula de anticuerpo monoclonal humana (compuesto A26) como se describe en la patente de Estados Unidos No. 7,867,493, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de PRLR es un anticuerpo monoclonal humano (compuesto A26) descrito en el documento US 7,867,493. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con una molécula de anticuerpo monoclonal humano (compuesto A26) descrita en la patente de Estados Unidos No. 7,867,493 para tratar un trastorno tal como, un cáncer, un cáncer de próstata o un cáncer de mama.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de la PIM quinasa, N-(4-((1R,3S,5S)-3-amino-5-metilciclohexil)piridin-3-il)-6-(2,6-difluorofenil)-5-fluoropicolinamida (compuesto A27) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/026124 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de PIM quinasa es N-(4-((1R,3S,5S)-3-amino-5-metilciclohexil)piridin-3-il)-6-(2,6-difluorofenil)-5-fluoropicolinamida (compuesto A27) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/026124. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con N-(4-((1R,3S,5S)-3-amino-5-metilciclohexil)piridin-3-il)-6-(2,6-difluorofenil)-5-fluoropicolinamida (compuesto A27), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/026124, para tratar un trastorno como un mieloma múltiple, un síndrome mielodisplásico, una leucemia mieloide o un linfoma no Hodgkin.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de señalización Wnt, 2-(2',3-dimetil-[2,4'-bipiridin]-5-il)-N-(5-(pirazin-2-il)piridin-2-il)acetamida (compuesto A28) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/101849 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de señalización Wnt es 2-(2',3-dimetil-[2,4'-bipiridin]-5-il)-N-(5-(pirazin-2-il)piridin-2-il)acetamida (compuesto A28) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/101849. En una realización, el inhibidor de señalización Wnt es 2-(2',3-dimetil-[2,4'-bipiridin]-5-il)-N-(5-(pirazin-2-il)piridin-2-il)acetamida (compuesto A28). En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con 2-(2',3-dimetil-[2,4'-bipiridin]-5-il)-N-(5-(pirazin-2-il)piridin-2-il)acetamida (compuesto A28), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/101849, para tratar un trastorno como un tumor sólido (por ejemplo, un cáncer de cabeza y cuello, un carcinoma de células escamosas, un cáncer de mama, un cáncer de páncreas o un cáncer de colon).

En ciertas realizaciones, se administra 2-(2',3-dimetil-[2,4'-bipiridin]-5-il)-N-(5-(pirazin-2-il)piridin-2-il)acetamida (compuesto A28) a una dosis de aproximadamente 1 a 50 mg, por ejemplo, aproximadamente 2 mg a 45 mg, aproximadamente 3 mg a 40 mg, aproximadamente 5 mg a 35 mg, 5 mg a 10 mg, o aproximadamente 10 mg a 30 mg, por ejemplo, aproximadamente 2 mg, 5 mg, 10 mg, 20 mg, 30 mg o 40 mg. El cronograma de dosificación puede variar de, por ejemplo, de cada dos días a diariamente, dos o tres veces al día.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de BRAF, Encorafenib (compuesto A29), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/025927 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de BRAF es Encorafenib (compuesto A29) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/025927. En una realización, se usa una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Encorafenib (compuesto A29), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/025927, para tratar un trastorno tal como un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un melanoma, o un cáncer colorrectal.

En una realización, el inhibidor de BRAF o Encorafenib (compuesto A29) se administra a una dosis de aproximadamente 200-300, 200-400 o 300-400 mg, por ejemplo, por día. En una realización, el compuesto se administra a una dosis de aproximadamente 200, aproximadamente 300 o aproximadamente 400 mg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de CDK4/6, 7-ciclopentil-N, N-dimetil-2-((5-((1R,6S)-9-metil-4-oxo-3,9-diazabicyclo[4.2.1]nonan-3-il)piridina)-2-il)amino)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida (compuesto A30), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/101409 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente

documento. En una realización, el inhibidor de CDK4/6 es 7-ciclopentil-N,N-dimetil-2-((5-((1R,6S)-9-metil-4-oxo-3,9-diazabicyclo[4.2.1]nonan-3-il)piridin-2-il)amino)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida (compuesto A30) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/101409. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con 7-ciclopentil-N,N-dimetil-2-((5-((1R,6S)-9-metil-4-oxo-3,9-diazabicyclo[4.2.1]nonan-3-il)piridin-2-il)amino)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida (compuesto A30), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2011/101409, para tratar un trastorno tal como un cáncer, un linfoma de células del manto, un liposarcoma, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un melanoma, un cáncer de esófago de células escamosas o un cáncer de mama.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de HER3, compuesto A31, o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2012/022814, para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de HER3 es el compuesto A31 o un compuesto descrito en la publicación PCT WO 2012/022814. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con el compuesto A31, o un compuesto descrito en la publicación PCT WO 2012/022814, para tratar un trastorno tal como un cáncer gástrico, un cáncer esofágico, un cáncer de cabeza y cuello, un carcinoma de células escamosas, un cáncer de estómago, un cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama metastásico) o un cáncer digestivo/gastrointestinal.

En algunas realizaciones, el compuesto A31 es una molécula de anticuerpo monoclonal humano.

En una realización, el inhibidor de HER3 o el Compuesto A31 se administra a una dosis de aproximadamente 3, 10, 20 o 40 mg/kg, por ejemplo, una vez por semana (QW). En una realización, el compuesto se administra a una dosis de aproximadamente 3-10, 10-20 o 20-40 mg/kg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un Inhibidor de FGFR2 y/o FGFR4, compuesto A32, o un compuesto descrito en una publicación PCT publicación No. WO 2014/160160 (por ejemplo, un conjugado farmacológico de molécula de anticuerpo contra un FGFR2 y/o FGFR4, por ejemplo, mAb 12425), para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en este documento. En una realización, el inhibidor de FGFR2 y/o FGFR4 es el compuesto A32 o un compuesto descrito en una publicación PCT publicación No. WO 2014/160160. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con el compuesto A32, o un compuesto como se describe en la Tabla 6, para tratar un trastorno como un cáncer, un cáncer gástrico, un cáncer de mama, un rhabdomyosarcoma, un cáncer de hígado, un cáncer suprarrenal, un cáncer de pulmón, un cáncer de esófago, un cáncer de colon o un cáncer de endometrio.

En algunas realizaciones, el Compuesto A32 es un conjugado farmacológico de molécula de anticuerpo contra un FGFR2 y/o FGFR4, por ejemplo, mAb 12425.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de M-CSF, compuesto A33, o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2004/045532 (por ejemplo, una molécula de anticuerpo o fragmento Fab contra M-CSF), para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de M-CSF es el compuesto A33 o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2004/045532. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con el compuesto A33, o un compuesto como se describe en la publicación PCT No. WO 2004/045532, para tratar un trastorno tal como un cáncer, un cáncer de próstata, un cáncer de mama, o sinovitis villonodular pigmentada (PVNS).

En realizaciones, el compuesto A33 es una molécula de anticuerpo monoclonal contra M-CSF o un fragmento (por ejemplo, fragmento Fab) del mismo. En realizaciones, el inhibidor de M-CSF o el compuesto A33 se administra a una dosis promedio de aproximadamente 10 mg/kg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de MEK, Binimetinib (compuesto A34), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/077914 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de MEK es Binimetinib (compuesto A34), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/077914. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Binimetinib (compuesto A34), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/077914, para tratar un trastorno tal como un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un trastorno genético multisistémico, un melanoma, un cáncer de ovario, un cáncer digestivo/gastrointestinal, una artritis reumatoide o un cáncer colorrectal.

En una realización, el inhibidor de MEK o Binimetinib (compuesto A34) se administra a una dosis de aproximadamente 45 mg, por ejemplo, dos veces al día.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en

combinación con un inhibidor de uno o más de c-KIT, liberación de histamina, Flt3 (por ejemplo, FLK2/STK1) o PKC, Midostaurina (compuesto A35) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/037347 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en este documento. En una realización, el inhibidor es Midostaurina (compuesto A35) o compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/037347. En una realización, el inhibidor de uno o más de c-KIT, liberación de histamina, Flt3 (por ejemplo, FLK2/STK1) o PKC es Midostaurina. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Midostaurina (compuesto A35), o compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2003/037347, para tratar un trastorno tal como un cáncer, un cáncer colorrectal, una leucemia mieloide, síndrome mielodisplásico, una degeneración macular relacionada con la edad, una complicación diabética o un trastorno dermatológico.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de TOR (por ejemplo, inhibidor de mTOR), Everolimus (también conocido como AFINITOR; compuesto A36) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/085318 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en este documento). En una realización, el inhibidor de TOR es Everolimus (compuesto A36) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/085318. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Everolimus (compuesto A36) para tratar un trastorno tal como una enfermedad pulmonar intersticial, un cáncer de pulmón de células pequeñas, un cáncer respiratorio/torácico, un cáncer de próstata, un mieloma múltiple, un sarcoma, una degeneración macular relacionada con la edad, un cáncer óseo, una esclerosis tuberosa, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer endocrino, un linfoma, un trastorno neurológico, un astrocitoma, un cáncer cervical, un cáncer neurológico, una leucemia, trastornos del sistema inmunitario, rechazo de trasplantes, un cáncer gástrico, un melanoma, epilepsia, un cáncer de mama o un cáncer de vejiga.

En una realización, el inhibidor de TOR o Everolimus (compuesto A36) es administrado a una dosis de aproximadamente 2,5-20 mg/día. En una realización, el compuesto se administra a una dosis de aproximadamente 2,5, 5, 10 o 20 mg/día, por ejemplo, aproximadamente 2,5-5, 5-10, o 10-20 mg/día.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de uno o más de VEGFR-2, PDGFRbeta, KIT o Raf quinasa C, 1-metil-5-((2-(5-(trifluorometil)-1H-imidazol-2-il)piridin-4-il)oxi)-N-(4-(trifluorometil)enil)-1H-benzo[d]imidazol-2-amina (compuesto A37) o un compuesto descrito en la publicación PCT número WO 2007/030377 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de uno o más de VEGFR-2, PDGFRbeta, KIT o Raf quinasa C es 1-metil-5-((2-(5-(trifluorometil)-1H-imidazol-2-il)piridina)4-il)oxi)-N-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-2-amina (compuesto A37) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2007/030377. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con 1-metil-5-((2-(5-(trifluorometil)-1H-imidazol-2-il)piridin-4-il)oxi)-N-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-benzo[d]imidazol-2-amina (compuesto A37), o un compuesto descrito en la publicación PCT número WO 2007/030377, para tratar un trastorno como el cáncer, un melanoma, o un tumor sólido.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un agonista de somatostatina y/o un inhibidor de la liberación de la hormona del crecimiento, diaspertato de Pasireótido (también conocido como SIGNIFOR; compuesto A38) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2002/010192 o la patente de los Estados Unidos No. 7,473,761 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el agonista de somatostatina y/o el inhibidor de la liberación de la hormona del crecimiento es el diaspertato de Pasireótido (compuesto A38) o un compuesto descrito en la publicación PCT número WO 2002/010192 o en la patente de Estados Unidos No. 7,473,761. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con el diaspertato de Pasireótido (Compuesto A38), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2002/010192 o la patente de Estados Unidos No. 7,473,761, para tratar un trastorno como el cáncer de próstata, un cáncer endocrino, un cáncer neurológico, un cáncer de piel (por ejemplo, un melanoma), un cáncer de páncreas, un cáncer de hígado, un síndrome de Cushing, un trastorno gastrointestinal, acromegalia, un trastorno hepático y del tracto biliar o cirrosis hepática.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un modulador de transducción de señal y/o inhibidor de la angiogénesis, Dovitinib (compuesto A39) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2009/115562 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el modulador de la transducción de señal y/o el inhibidor de la angiogénesis es Dovitinib (compuesto A39) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2009/115562. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Dovitinib (compuesto A39), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2009/115562, para tratar un trastorno como un cáncer, un cáncer respiratorio/torácico, un mieloma múltiple, un cáncer de próstata, un cáncer de pulmón de células no pequeñas, un cáncer endocrino o un trastorno genético neurológico.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de EGFR. (R,E)-N-(7-cloro-1-(1-(4-(dimetilamino)but-2-enil)azepan-3-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilisonicotinamida (compuesto A40) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/184757 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de EGFR es (R,E)-N-(7-cloro-1-(1-(4-(dimetilamino)but-2-enil)azepan-3-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilisonicotinamida (compuesto A40) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/184757. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con (R,E)-N-(7-cloro-1-(1-(4-(dimetilamino)but-2-enil)azepan-3-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilisonicotinamida (compuesto A40), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2013/184757, para tratar un trastorno como un cáncer, por ejemplo, un tumor sólido.

En una realización, el inhibidor de EGFR o (R,E)-N-(7-cloro-1-(1-(4-(dimetilamino)but-2-enil)azepan-3-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)-2-metilisonicotinamida (compuesto A40) se administra a una dosis de 150-250 mg, por ejemplo, por día. En una realización, el compuesto se administra a una dosis de aproximadamente 150, 200 o 250 mg, o aproximadamente 150-200 o 200-250 mg.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de ALK, N⁶-(2-isopropoxi-5-metil-4-(1-metilpiperidin-4-il)fenil)-N⁴-(2-(isopropilsulfonil)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6-diamina (compuesto A42) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2008/073687 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de ALK es N⁶-(2-isopropoxi-5-metil-4-(1-metilpiperidin-4-il)fenil)-N⁴-(2-(isopropilsulfonil)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6-diamina (Compuesto A42) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2008/073687. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con N⁶-(2-isopropoxi-5-metil-4-(1-metilpiperidin-4-il)fenil)-N⁴-(2-(isopropilsulfonil)fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4,6-diamina (compuesto A42), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2008/073687, para tratar un trastorno tal como el cáncer, un linfoma anaplásico de células grandes (ALCL), un carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) o un neuroblastoma.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de IGF-1R, 1,1-dióxido de 3-(4-(4-((5-cloro-4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)amino)-5-fluoro-2-metilfenil)piperidin-1-il)tietano (compuesto A43), 5-cloro-N²-(2-fluoro-5-metil-4-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il))piperidin-4-il)fenil)-N⁴-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-2,4-diamina (compuesto A44), o 5-cloro-N²-(4-(1-etilpiperidin-4-il)-2-fluoro-5-metilfenil)-N⁴-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-2,4-diamina (compuesto A45) o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/002655 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito. En una realización, el inhibidor de IGF-1R es 1,1-dióxido de 3-(4-(4-((5-cloro-4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)amino)-5-fluoro-2-metilfenil)piperidin-1-il)tietano (compuesto A43), 5-cloro-N²-(2-fluoro-5-metil-4-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il))piperidin-4-il)fenil)-N⁴-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-2,4-diamina (compuesto A44), 5-cloro-N²-(4-(1-etilpiperidin-4-il)-2-fluoro-5-metilfenil)-N⁴-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-2,4-diamina (compuesto A45), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/002655. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con 1,1-dióxido de 3-(4-(4-((5-cloro-4-((5-metil-1H-pirazol-3-il)amino)pirimidin-2-il)amino)-5-fluoro-2-metilfenil)piperidin-1-il)tietano (compuesto A43), 5-cloro-N²-(2-fluoro-5-metil-4-(1-(tetrahidro-2H-piran-4-il))piperidin-4-il)fenil)-N⁴-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-2,4-diamina (compuesto A44), 5-cloro-N²-(4-(1-etilpiperidin-4-il)-2-fluoro-5-metilfenil)-N⁴-(5-metil-1H-pirazol-3-il)pirimidin-2,4-diamina (compuesto A45), o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2010/002655, para tratar un trastorno como un cáncer o un sarcoma.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de P-glicoproteína 1, Valspodar (también conocido como AMDRAY; compuesto A46) o un compuesto descrito en el documento EP 296122 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de P-glicoproteína 1 es Valspodar (compuesto A46) o un compuesto descrito en el documento EP 296122. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con Valspodar (compuesto A46), o un compuesto descrito en el documento EP 296122, para tratar un trastorno tal como un cáncer o un tumor resistente a fármacos.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con uno o más de un inhibidor de VEGFR, succinato de Vatalanib (compuesto A47) o un compuesto descrito en el documento EP 296122 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de VEGFR es succinato de Vatalanib (compuesto A47) o un compuesto descrito en el documento EP 296122. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con succinato de Vatalanib (compuesto A47), o un compuesto descrito en el documento EP 296122, para tratar el cáncer.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de IDH o un compuesto descrito en el documento WO 2014/141104 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de IDH es un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/141104. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con un compuesto descrito en el documento WO 2014/141104 para tratar un trastorno tal como un cáncer.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en el presente documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de BCL-ABL o un compuesto descrito en las publicaciones PCT Nos. WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641, o WO 2013/171642 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de BCL-ABL es un compuesto descrito en las publicaciones PCT Nos. WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641, o WO 2013/171642. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con un compuesto descrito en las publicaciones PCT Nos. WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641, o WO 2013/171642 para tratar un trastorno tal como un cáncer.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor de c-RAF o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/151616 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor de c-RAF es el compuesto A50 o un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/151616. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con un compuesto descrito en la publicación PCT No. WO 2014/151616 para tratar un trastorno tal como un cáncer.

En otra realización, la molécula de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 como se describe en este documento, sola o en combinación con uno o más de otros inmunomoduladores, se usa en combinación con un inhibidor competitivo de ERK1/2 ATP o un compuesto descrito en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 2015/066188 para tratar un trastorno, por ejemplo, un trastorno descrito en el presente documento. En una realización, el inhibidor competitivo de ERK1/2 ATP es un compuesto descrito en la Publicación de Patente internacional No. WO 2015/066188. En una realización, una molécula de anticuerpo TIM-3 se usa en combinación con el compuesto A51 o un compuesto descrito en la Solicitud de Patente Internacional No. WO2015/066188 para tratar un trastorno tal como un cáncer.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo TIM-3 se administra en combinación con uno o más agentes seleccionados de, compuesto A8, compuesto A17, compuesto A23, compuesto A24, compuesto A27, compuesto A29 y compuesto A33.

En algunas realizaciones, una molécula de anticuerpo TIM-3 se administra en combinación con un agente anticanceroso que tiene una actividad conocida en un ensayo de células inmunes, por ejemplo, en uno o más de un ensayo de huMLR, un ensayo de proliferación de células T, y un ensayo de proliferación de células B. Ejemplos de ensayos se describen a continuación. De acuerdo con el ensayo, se puede calcular una IC50 para cada agente de prueba. En realizaciones, el agente anticanceroso tiene una IC50 de, por ejemplo, 0-1 μ M, 1-4 μ M, o mayor que 4 μ M, por ejemplo, 4-10 μ M o 4-20 μ M. En realizaciones, el segundo agente terapéutico se elige entre uno o más de: compuesto A9, compuesto A16, compuesto A17, compuesto A21, compuesto A22, compuesto A25, compuesto A28, compuesto A48 y compuesto A49.

En algunas realizaciones, el compuesto A28 (o un compuesto relacionado con el compuesto A28) se administra a una dosis de aproximadamente 5-10 o 10-30 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A22 (o compuesto relacionado con el compuesto A22) se administra a una dosis de aproximadamente 200 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A17 (o compuesto relacionado con el compuesto A17) se administra a una dosis de aproximadamente 400-600 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A16 (o compuesto relacionado con el compuesto A16) se administra a una dosis de aproximadamente 400-600 mg administración oral por día. En algunas realizaciones, el compuesto A29 (o compuesto relacionado con el compuesto A29) se administra a una dosis de aproximadamente 200-400 o 300-400 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A24 (o compuesto relacionado con el compuesto A24) se administra a una dosis de aproximadamente 200-600 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A23 (ceritinib) (o compuesto relacionado con ceritinib) se administra a una dosis de aproximadamente 750 mg una vez al día. En algunas realizaciones, el compuesto A8 (o compuesto relacionado con el compuesto A8) se administra a una dosis de aproximadamente 200-400 o 300-400 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A5 (o compuesto relacionado con el compuesto A5) se administra a una dosis de aproximadamente 100-125 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A6 (o compuesto relacionado con el compuesto A6) se administra a una dosis de aproximadamente 100 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A1 (o compuesto relacionado con el compuesto A1) se administra a una dosis de aproximadamente 200-300 o 200-600 mg. En algunas realizaciones, el compuesto A40 (o compuesto relacionado con el compuesto A40) se administra a una dosis de aproximadamente 150-250 mg. En realizaciones, el compuesto A10 (o compuesto relacionado con el compuesto A10) se administra a una dosis de aproximadamente 400 a 700 mg, por ejemplo, administrada tres veces por semana, 2 semanas y una semana de descanso. En realizaciones, el inhibidor de BCR-ABL se administra a una dosis de aproximadamente 20 mg dos veces por día-80 mg dos veces por día.

Ejemplos de un ensayo de huMLR y ensayos de proliferación de células B o T se proporcionan a continuación.

Reacción de linfocitos mixtos humano

La reacción de linfocitos mixtos (MLR) es un ensayo funcional que mide la respuesta proliferativa de los linfocitos de un individuo (el respondedor) a los linfocitos de otro individuo (el estimulador). Para realizar una MLR alogénica, se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de tres donantes de capas leucocitarias de tipo HLA desconocido (Kantonspital Blutspendezentrum de Berna y Aarau, Suiza). Las células se prepararon a razón de 2×10^5 en 0.2 mL de medio de cultivo que contenía RPMI 1640 GlutaMAX^{MR} con suero de ternera fetal (FCS) al 10%, 100 U de penicilina/100 µg de estreptomicina, 2-mercaptoetanol 50 µM. Las reacciones individuales de dos vías se establecieron mezclando PBMC de dos donantes diferentes en una proporción 1:1 y los cocultivos se realizaron por triplicado en placas de cultivo de tejidos de 96 pozos de fondo plano durante 6 días a 37 °C, 5% de CO₂, en presencia o no de un intervalo de concentración de 8 puntos de los compuestos de prueba. Las células se pulsaron con 3H-TdR (1 µCi/0.2 mL) durante las últimas 16 h de cultivo y se usó la radiactividad incorporada como una medida de la proliferación celular. La concentración que inhibió el 50% de la respuesta máxima de huMLR (IC₅₀) se calculó para cada compuesto. Se utilizó ciclosporina como control positivo de la inhibición de huMLR.

Ensayo de proliferación de células B humanas

Las PBMC se aislaron en forma fresca mediante un gradiente de densidad de Ficoll-Paque de sangre humana y se sometieron a un aislamiento negativo de células B. Las células B se resuspendieron en medio de cultivo (RPMI 1640, HEPES, FCS al 10%, 50 µg/mL de gentamicina, 2-mercaptoetanol 50 µM, 1x ITS (insulina, transferrina y selenita de sodio), 1x aminoácidos no esenciales) a una concentración de 9×10^4 por pozo en una placa de cultivo de 96 pozos de fondo plano. La estimulación de células B se realizó mediante una molécula de anticuerpo anti-IgM humano (30 µg/mL) e IL-4 (75 ng/mL) o mediante ligando de CD40 (3 µg/mL) e IL-4 (75 ng/mL) en presencia o no de un intervalo de concentración de 7 puntos de los compuestos de prueba. Después de 72 h de cultivo a 37 °C, 10% de CO₂, las células se pulsaron con 3H-TdR (1 µCi/pozo) durante las últimas 6 h de cultivo. Las células B se recogieron y la incorporación de timidina se midió utilizando un contador de centelleo. De cada tratamiento por duplicado, se calculó la media y estos datos se representaron en XLfit 4 para determinar los valores de IC₅₀ respectivos.

Ensayo de proliferación de células T humanas

Las PBMC se aislaron en forma fresca mediante un gradiente de densidad de Ficoll-Paque de sangre humana y se sometieron a aislamiento negativo de células T. Se prepararon células T en medio de cultivo (RPMI 1640, HEPES, FCS 10%, 50 µg/mL de gentamicina, 2-mercaptoetanol 50 µM, 1x ITS (insulina, transferrina y selenita de sodio), 1x de aminoácidos no esenciales) a una concentración de 8×10^4 por pozo en una placa de cultivo de 96 pozos de fondo plano. La estimulación de células T se realizó mediante una molécula de anticuerpo anti-CD3 humano (10 µg/mL) o mediante una molécula de anticuerpo anti-CD3 humana (5 µg/mL) y una molécula de anticuerpo anti-CD28 (1 µg/mL) en presencia o no de un intervalo de concentración de 7 puntos de los compuestos de prueba. Después de 72 h de cultivo a 37 °C, 10% de CO₂, las células se pulsaron con 3H-TdR (1 µCi/pozo) durante las últimas 6 h de cultivo. La proliferación celular se midió mediante la incorporación de timidina que permite la determinación de IC₅₀ para cada compuesto de prueba.

Submoduladores del sistema inmune

En una realización alternativa, las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3 descritas en el presente documento se usan para producir péptidos o anticuerpos antiidiotípicos (Wallmann, J. et al., (2010) "Anti-Ig in Allergy: Timeliness of a Classic Concept," World Allergy Organiz. J. 3 (6): 195-201; Nardi, M. et al., (2000) "Antidiotype Antibody Against Platelet Anti-GpIIb Contributes To The Regulation Of Thrombocytopenia In HIV-1-ITP Patients", J. Exp. Med. 191 (12): 2093-2100) o miméticos (Zang, Y. C. et al., (2003) "Human Anti-Idiotypic T Cells Induced By TCR Peptides Corresponding To A Common CDR3Sequence Motif In Myelin Basic Protein-Reactive T Cells," Int. Immunol. 15 (9): 1073-1080; Loiarro, M. et al., (Epub abril 8 de 2010) "Targeting TLR/IL-1R Signalling In Human Diseases", Mediators Inflamm. 2010: 674363) de TIM-3. Dichas moléculas sirven como sustitutos de TIM-3, y por lo tanto su administración a un sujeto submodula el sistema inmunológico de dicho sujeto al imitar o facilitar la unión del ligando-TIM-3. Tales moléculas tienen utilidad en el tratamiento de la enfermedad de injerto contra huésped. De manera similar, los anticuerpos agonistas que i) mejoran la unión entre dichos anticuerpos y dicho receptor/ligando o ii) activan la transducción de señales cuando se unen directamente a un ligando de TIM-3 o TIM-3, tienen utilidad como agonistas de la señalización de TIM-3 y, por lo tanto, tienen utilidad en el tratamiento de la inflamación y la enfermedad autoinmune, agonizando directa o indirectamente la actividad del receptor.

Los anticuerpos biespecíficos, que muestran unión inmuno-específica tanto con TIM-3 como con los ligandos de TIM-3 son capaces de unirse tanto a las células APC como a las células T, y por lo tanto facilitan la colocación de las células APC y las células T. Dicha colocación facilita la capacidad de dichas células para unirse mediante el ligando de TIM-3 y las moléculas TIM-3 que no están complejadas con el anticuerpo, o por las moléculas coinhibidoras. Tal unión proporciona una submodulación del sistema inmunológico del receptor.

La submodulación del sistema inmune es deseable en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes, y la enfermedad de injerto contra huésped (GvHD). Los ejemplos de trastornos autoinmunes que pueden tratarse

mediante la administración de los anticuerpos de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípido, enfermedad de Addison autoinmune, enfermedades autoinmunes de la glándula suprarrenal, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, ooforitis y orquitis autoinmune, trombocitopenia autoinmune, enfermedad de Behcet, penfigoide buloso, cardiomiopatía, dermatitis por enfermedad celiaca, síndrome de disfunción inmune por fatiga crónica (CFIDS), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, síndrome de Churg-Strauss, penfigoide cicatricial, síndrome de CREST, enfermedad de aglutinina fría, enfermedad de Crohn, lupus discoide, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, glomerulonefritis, enfermedad de Graves, Guillain-Barré, tiroiditis de Hashimoto, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), neuropatía de IgA, artritis juvenil, lichen plano, lupus eritematoso, enfermedad de Menier, enfermedad mixta del tejido conectivo, esclerosis múltiple, neuromielitis óptica (NMO), diabetes mellitus tipo 1 o mediada por el sistema inmunitario, miastenia grave, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, poliarteritis nodosa, policondritis, síndromes poliglandulares, polimialgia, reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis psoriásica, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, artritis reumatoide, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, síndrome del hombre rígido, lupus eritematoso sistémico, lupus eritematoso, arteritis de Takallasu, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, mielitis transversal, colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis, tal como vasculitis por dermatitis herpetiforme, vitiligo y granulomatosis de Wegener.

Ejemplos de trastornos inflamatorios que pueden prevenirse, tratarse o manejarse de acuerdo con los métodos de la descripción incluyen, pero no se limita a, asma, encefalitis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), trastornos alérgicos, Choque séptico, fibrosis pulmonar, espondiloartropatía no diferenciada, artropatía no diferenciada, artritis, osteólisis inflamatoria e inflamación crónica resultante de infecciones virales o bacterianas crónicas.

Por lo tanto, los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno de la presente divulgación tienen utilidad en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Usos diagnósticos

En algunos aspectos, la presente descripción proporciona un método de diagnóstico para detectar la presencia de una proteína TIM-3 *in vitro* (por ejemplo, en una muestra biológica, tal como una biopsia de tejido, por ejemplo, de un tejido canceroso) o *in vivo* (por ejemplo, imágenes *in vivo* en un sujeto). El método incluye: (i) poner en contacto la muestra con una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento, o administrar al sujeto, la molécula de anticuerpo; (opcionalmente) (ii) poner en contacto una muestra de referencia, por ejemplo, una muestra de control (por ejemplo, una muestra biológica de control, tal como plasma, tejido, biopsia) o un sujeto de control con una molécula de anticuerpo descrita en este documento; y (iii) detectar la formación de un complejo entre la molécula de anticuerpo y la muestra o sujeto, o la muestra o sujeto de control, en donde un cambio, por ejemplo, un cambio estadísticamente significativo, en la formación del complejo en la muestra o sujeto en relación con la muestra de control o el sujeto es indicativo de la presencia de TIM-3 en la muestra. La molécula de anticuerpo puede marcarse directa o indirectamente con una sustancia detectable para facilitar la detección del anticuerpo unido o no unido. Las sustancias detectables adecuadas incluyen diversas enzimas, grupos protésicos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes y materiales radiactivos, como se describió anteriormente y se describe con más detalle a continuación.

El término "muestra", como se refiere a muestras usadas para detectar polipéptidos, incluye, pero no se limita a, células, lisados celulares, proteínas o extractos de membrana de células, fluidos corporales como sangre o muestras de tejidos.

La formación de complejos entre la molécula de anticuerpo y el TIM-3 puede detectarse midiendo o visualizando la molécula de anticuerpo unida al antígeno TIM-3 o una molécula de anticuerpo no unida. Se puede usar cualquier ensayo de detección adecuado, y los ensayos de detección convencionales incluyen un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), un radioinmunoensayo (RIA) o inmunohistoquímica tisular. Como alternativa a la marcación de la molécula de anticuerpo, la presencia de TIM-3 puede analizarse en una muestra mediante un inmunoensayo de competición utilizando estándares marcados con una sustancia detectable y una molécula de anticuerpo no marcada. En este ensayo, la muestra biológica, los estándares marcados y la molécula de anticuerpo se combinan y se determina la cantidad de estándar marcado unido a la molécula de unión no marcada. La cantidad de TIM-3 en la muestra es inversamente proporcional a la cantidad de estándar marcado unido a la molécula de anticuerpo.

En algunos aspectos, la presente descripción proporciona métodos para usar una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 para diagnosticar sepsis, SIRS (síndrome de respuesta inflamatoria sistémica), preeclampsia o glomerulonefritis. La sepsis suele ir acompañada de una subregulación de TIM-3 (Yang et al., J Immunol. 1 de marzo de 2013; 190 (5): 2068-79), por lo que los niveles disminuidos de TIM-3 son indicativos de sepsis mientras que los niveles normales de TIM-3 son una indicación de que la sepsis no está presente. En SIRS y preeclampsia, los niveles de TIM-3 están subregulados en los linfocitos periféricos (Miko et al., PLoS ONE 8 (8): e71811), por lo que los niveles reducidos de TIM-3 son indicativos de SIRS o preeclampsia, mientras que los niveles normales de TIM-3 son una indicación de que SIRS y preeclampsia no están presentes. En la glomerulonefritis, TIM-3 se puede sobreregular (véase, Schroll et al., Am J Pathol. Abril de 2010; 176 (4): 1716-1742), por lo que los niveles elevados de TIM-3 son indicativos de glomerulonefritis, mientras que los niveles normales son una indicación de que la glomerulonefritis no está presente.

Ácidos nucleicos

La presente descripción también presenta ácidos nucleicos que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican regiones variables de la cadena pesada y ligera y CDR de las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la presente descripción presenta un primer y segundo ácido nucleico que codifican regiones variables de la cadena pesada y ligera, respectivamente, de una molécula de anticuerpo anti-TIM-3 elegida de una o más de las moléculas de anticuerpo descritas en el presente documento, por ejemplo, un anticuerpo de las Tablas 1-4. El ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica una cualquiera de las secuencias de aminoácidos en las tablas del presente documento, o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma (por ejemplo, una secuencia al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma), o que difiere en no más de 3, 6, 15, 30 o 45 nucleótidos de las secuencias proporcionadas en las Tablas 1-4.

En ciertas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos o tres CDR de una región variable de la cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntico a la misma, y/o que tiene una o más sustituciones, por ejemplo, sustituciones conservadas). En algunas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos o tres CDR de una región variable de la cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una o más sustituciones, por ejemplo, sustituciones conservadas). En algunas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR de regiones variables de la cadena pesada y ligera que tienen una secuencia de aminoácidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente el 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o que tiene una o más sustituciones, por ejemplo, sustituciones conservadas).

En ciertas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos o tres CDR de una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de nucleótidos como se expone en las Tablas 1-4, una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o capaz de hibridar bajo las condiciones de rigurosidad descritas en este documento). En algunas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos o tres CDR de una región variable de la cadena ligera que tiene la secuencia de nucleótidos como se expone en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia de al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o capaz de hibridar bajo las condiciones de rigurosidad descritas en este documento). En ciertas realizaciones, el ácido nucleico puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR de regiones variables de la cadena pesada y ligera que tienen la secuencia de nucleótidos como se indica en las Tablas 1-4, o una secuencia sustancialmente homóloga a la misma (por ejemplo, una secuencia al menos aproximadamente 85%, 90%, 95%, 99% o más idéntica a la misma, y/o capaz de hibridar bajo las condiciones de rigurosidad descritas en el presente documento). Los ácidos nucleicos descritos en este documento incluyen desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos, o análogos de los mismos. El polinucleótido puede ser de cadena sencilla o de cadena doble o, y si es cadena sencilla puede ser la cadena codificante o la cadena no codificante (antisentido). Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y análogos de nucleótidos. La secuencia de nucleótidos puede estar interrumpida por componentes no nucleotídicos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente después de la polimerización, tal como por conjugación con un componente de marcación. El ácido nucleico puede ser un polinucleótido recombinante o un polinucleótido de origen genómico, ADNc, semisintético o sintético que no se produce en la naturaleza o está enlazado a otro polinucleótido en una disposición no natural.

En algunos aspectos, las células y vectores huésped característicos de la solicitud contienen los ácidos nucleicos descritos en el presente documento. Los ácidos nucleicos pueden estar presentes en un vector único o en vectores separados presentes en la misma célula huésped o célula huésped separada, como se describe con más detalle a continuación.

Vectores

Además, en la presente memoria se proporcionan vectores que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican una molécula de anticuerpo descrita en la presente memoria. En algunas realizaciones, los vectores comprenden nucleótidos que codifican una molécula de anticuerpo descrita en el presente documento. En algunas realizaciones, los vectores comprenden las secuencias de nucleótidos descritas en el presente documento. Los vectores incluyen, pero no se limitan a, un virus, plásmido, cósmido, fago lambda o un cromosoma artificial de levadura (YAC).

Se pueden emplear numerosos sistemas de vectores. Por ejemplo, una clase de vectores utiliza elementos de ADN que se derivan de virus animales tales como, por ejemplo, virus del papiloma bovino, virus del poliovirus, adenovirus, virus de la vacuna, baculovirus, retrovirus (virus del sarcoma de Rous, MMTV o MOMLV) o virus SV40. Otra clase de

vectores utiliza elementos de ARN derivados de virus de ARN tales como el virus del bosque Semliki, el virus de encefalitis equina oriental y los flavivirus.

Adicionalmente, las células que han integrado de forma estable el ADN en sus cromosomas pueden seleccionarse introduciendo uno o más marcadores que permiten la selección de células huésped transfectadas. El marcador puede proporcionar, por ejemplo, prototrofia a un huésped auxotrófico, resistencia a biocidas (por ejemplo, antibióticos), o resistencia a metales pesados tales como cobre, o similares. El gen marcador seleccionable puede estar directamente enlazado a las secuencias de ADN a expresar, o introducirse en la misma célula mediante cotransformación. También pueden ser necesarios elementos adicionales para la síntesis óptima de ARNm. Estos elementos pueden incluir señales de empalme, así como promotores de transcripción, potenciadores y señales de terminación.

Una vez que el vector de expresión o la secuencia de ADN que contiene los constructos ha sido preparado para la expresión, los vectores de expresión pueden transfectarse o introducirse en una célula huésped apropiada. Se pueden emplear diversas técnicas para lograr esto, tales como, por ejemplo, fusión de protoplastos, precipitación con fosfato de calcio, electroporación, transducción retroviral, transfección viral, pistola de genes, transfección basada en lípidos u otras técnicas convencionales. En el caso de la fusión de protoplastos, las células se cultivan en medios y se examinan para determinar la actividad apropiada.

Los métodos y condiciones para cultivar las células transfectadas resultantes y para recuperar la molécula de anticuerpo producida son conocidos por los expertos en la técnica, y pueden variarse u optimizarse dependiendo del vector de expresión específico y la célula huésped de mamífero empleada, basándose en la presente descripción.

Células

La presente descripción también proporciona células huésped que comprenden un ácido nucleico que codifica una molécula de anticuerpo como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones, las células huésped están diseñadas genéticamente para comprender ácidos nucleicos que codifican la molécula de anticuerpo.

En ciertas realizaciones, las células huésped están diseñadas genéticamente usando un casete de expresión. La frase "casete de expresión" se refiere a secuencias de nucleótidos, que son capaces de afectar la expresión de un gen en huéspedes compatibles con tales secuencias. Tales casetes pueden incluir un promotor, un marco de lectura abierto con o sin intrones y una señal de terminación. También pueden usarse factores adicionales necesarios o útiles para efectuar la expresión, tales como, por ejemplo, un promotor inducible.

La descripción también proporciona células huésped que comprenden los vectores descritos en el presente documento.

La célula puede ser, pero no se limita a, una célula eucariótica, una célula bacteriana, una célula de insecto o una célula humana. Las células eucariotas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, células Vero, células HeLa, células COS, células CHO, células HEK293, células BHK y células MDCKII. Las células de insecto adecuadas incluyen, pero no se limitan a, células Sf9.

Los ejemplos de secuencias de anticuerpos anti-TIM-3 se describen en las Tablas 1-4 a continuación.

Tabla 1. Resumen de las secuencias del anticuerpo murino ABTIM3.

Designación del anticuerpo	SEQ ID NO	Descripción
ABTIM3	1	secuencia de aminoácidos de VH
	2	secuencia de aminoácidos de VL
	3	secuencia de aminoácidos de VHCDR1
	4	secuencia de aminoácidos de VHCDR2
	5	secuencia de aminoácidos de VHCDR3
	6	secuencia de aminoácidos de VLCDR1
	7	secuencia de aminoácidos de VLCDR2
	8	secuencia de aminoácidos de VLCDR3

Tabla 2. Representación de las secuencias de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada y del dominio variable de la cadena ligera del anticuerpo murino ABTIM3. Las CDR se muestran en el texto de color blanco sobre un fondo negro.

SEQ ID NO	Secuencia
1	QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYNMHWIKQT PGQGLEWIGD IYPGNGDTSY NQKFKG KATL TADKSSSTVY MQLSSLTSED SAVYYCARVG GAFPMDYWGQ GTSVTVSS
2	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVE YYGTSLMQWY QOKPGQPPKL LIYAASNVES GVPARFSGSG SGTDFSLNIH PVEEDDIAIY FC QOSRKDPS TFGGGTKLEI K

5 Tabla 3. Representación de las secuencias de aminoácidos de las CDR de la cadena pesada y las CDR de la cadena ligera del anticuerpo murino ABTIM3.

SEQ ID NO	Secuencia
3	SYNMH
4	DIYPGNGDTSYNQKFKG
5	VGGAFPMDY
6	RASESVEYYGTSLMQ
7	AASNVES
8	QOSRKDPST

10 Los ejemplos de secuencias de anticuerpos anti-TIM-3 se describen en la Tabla 4. Las moléculas de anticuerpo incluyen ABTIM3 murino y moléculas de anticuerpo humanizado. Se muestran las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de las CDR de las cadenas pesada y ligera, las regiones variables de las cadenas pesada y ligera y las cadenas pesada y ligera.

Tabla 4. Resumen de los ejemplos de secuencias de anticuerpos anti-TIM-3.

Clon del hibridoma		
ABTIM3		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY

ES 2 972 425 T3

SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 1	VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWIKQTPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO: 11	VH de ADN	CAGGTGCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCCTCAG TGAAGATGTCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATATGCA CTGGATAAAGCAGACACCTGGACAGGGCCTGGAATGGATTGGAGATATTTAT CCAGGAAATGGTGATACTTCTTACAATCAGAAATTCAAAGGCAAGGCCACAT TGAAGTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGTCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGAC ATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGTGGGGGGTGCCTTTCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 2	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPARFSGSGGTDFSLNIHPVEEDDIAIYFCQQSRKDPSTFGG GTKLEIK
SEQ ID NO: 15	VL de ADN	GACATTGTGCTCACCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGA GAGCCACCATCTCCTGCAGAGCCAGTGAAAGTGTTGAATATTATGGCACAAG TTTAATGCAGTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATC TATGCTGCATCCAACGTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTTAGTGGCAGTG GGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGATGATAT TGCAATATATTTCTGTGAGCAAGTAGGAAGGATCCTTCGACGTTCCGGTGGG GGCACCAGCTGGAGATCAAA
ABTIM3-hum01		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH

ES 2 972 425 T3

SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 16	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGT LVT VSS
SEQ ID NO: 17	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTG TGAAAGTCTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGGCAGGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACTA TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCCTGAG GTCTGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 18	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLT VLVHQLDNL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 19	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTG TGAAAGTCTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTTTCGCCAGGCCCCAGGGCAGGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACTA TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTTCCTGAG GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTG TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCTCGGTGGTACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCAATCGAAGTACGGCCACCGTGCCCGC CTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCACCC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTG GTCGTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACTGGCTG AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTA TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGGAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGACTCAGAA CGGATCCTTCTTCCCTCTACTCGCGGTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTTCACTGTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 20	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 21	VL de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTACTGTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 22	Cadena ligera	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVDPDRFSGSGSTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 23	Cadena ligera de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTACTGTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum02		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chotia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 26	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGSGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFF MDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 27	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTG TGAAAGTTAGCTGTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGTCAAGGCCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGTAGCGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAAGGTAGAGCTACTA TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTTCCCTGAG GTCTGAAGATAACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 28	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGSGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARVGGAFP MDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVQLHQLDL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 29	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTG TGAAAGTTAGCTGTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGTCAAGGCCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGTAGCGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAAGGTAGAGCTACTA TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTTCCCTGAG GTCTGAAGATAACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGACACCTTCCCCGCTG TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTGCGTGGTACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGC CTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCACCC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTG GTCGTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACTGGCTG AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTA TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGGAACCAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGTTGACTCAGA CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES

SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 20	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 21	VL de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 22	Cadena ligera	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 23	Cadena ligera de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGTTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum03		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH

ES 2 972 425 T3

SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 32	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGQGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAFP MDYWGQGT LVT VSS
SEQ ID NO: 33	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCGGCGCTAGTG TGAAAGTTAGCTGTAAAGCTAGTGGCTATACTTTCACTTCTTATAATATGCA CTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAAGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGTCAAGGCGACACTTCCTATAATCAGAAAGTTTAAGGGTAGAGCTACTA TGACCGCCGATAAGTCTACTTCTACCGTCTATATGGAAGTGAAGTTCCTGAG GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCA ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 34	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGQGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAFP MDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLT VLVHQLDNL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSL SLG

SEQ ID NO: 35	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTG TGAAAGTTAGCTGTAAAGCTAGTGGCTATACTTTCACTTCTTATAATATGCA CTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCAAGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGTCAAGGCGACACTTCCTATAATCAGAAAGTTAAGGGTAGAGCTACTA TGACCGCCGATAAGTCTACTTCTACCGTCTATATGGAACAGATTCCCTGAG GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCA ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGCTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTG TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGC CTTGTCGCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCACC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTG GTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAGGACTGGCTG AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTA TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGAAAACAACCTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGACTCAGA CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTTCACTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTS
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 20	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 21	VL de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCAGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 22	Cadena ligera	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSDFTLTISLQAEDVAVYYCQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 23	Cadena ligera de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCAGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum04		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY

SEQ ID NO: 36	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTLLTVSS
SEQ ID NO: 37	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCGGCGCTAGTG TGAAAGTTTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGATTAGACAGGCCCCAGGGCAGGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACCC TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCCTGAG GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGGCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 38	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 39	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCGGCGCTAGTG TGAAAGTTTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGATTAGACAGGCCCCAGGGCAGGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACCC TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCCTGAG GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGGCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTG TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGGCCGC CTTGTCGCCGCGCCGGAGTTCCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTCTGTTCCACC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTG GTCGTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACTGGCTG AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTA TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGGAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGACTCAGA CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGAAAATGTGTTGAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA

ES 2 972 425 T3

SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 40	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFC GTKVEIK
SEQ ID NO: 41	VL de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAACGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 42	Cadena ligera	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 43	Cadena ligera de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAACGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum05		

ES 2 972 425 T3

SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 44	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIY PGSGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAF MDYWGQGT LVT VSS
SEQ ID NO: 45	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCAAGC TTAAAGTCTCATGTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGC CTGGATTAGACAGGCCCCAGGGCAAGGCCTGGAGTGGATCGGCGATATCTA CCCGGTAGCGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACC TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTTCCTGA GAGTGAAGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCC ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCAAGC
SEQ ID NO: 46	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIY PGSGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAF MDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPAPPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWI NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 47	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCAAGCC TTAAAGTCTCATGTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGATTAGACAGGCCCCAGGGCAAGGCCTGGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGTAGCGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGCTACCC TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTTCCCTGAC GAGTGAAGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCC ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCAAGCGCTAGCACTA AGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGAC GTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTC TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCTGCTGGTGGTCAAGGTGCCTT ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCAATCGAAGTACGGCCACCGTGCCCG CTTGTCCCGCGCCGGAGTTCCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCA GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGT GTCGTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACTGGCT AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGAAGTTCCTAGCTCA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGT TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGAC TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCC ACGGCCAGCCGGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTCTGGACTCAG CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCA GAGGGAAATGTGTTTCAAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCAC ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTS
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 40	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 41	VL de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCAGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 42	Cadena ligera	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 43	Cadena ligera de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAAGTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCAGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATC TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCC GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAA GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGC ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum06		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY

SEQ ID NO: 48	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIY PGQGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO: 49	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTG TGAAAGTCTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGATTAGACAGGCCCCAGGTCAAGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGTCAAGGCGACACTAGTTATAATCAGAAAGTTAAGGGTAGAGCTACCC TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGGAGTTCCCTGAG GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 50	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIY PGQGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 51	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTG TGAAAGTCTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGATTAGACAGGCCCCAGGTCAAGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTAC CCCGGTCAAGGCGACACTAGTTATAATCAGAAAGTTAAGGGTAGAGCTACCC TGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGGAGTTCCCTGAG GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTG TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCACCCTGCCCCGC CTTGTCCCGCGCCGGAGTTCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCACC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTG GTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACTGGCTG AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTA TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGAAAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGA CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTGAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA

SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 40	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 41	VL de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAACGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 42	Cadena ligera	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 43	Cadena ligera de ADN	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGC GGGCTACTATTAACGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGATAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGGACGT GGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATC TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCC GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAA GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGC ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

ES 2 972 425 T3

ABTIM3-hum07		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 36	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTVYMELSSLRSEDYAVYYCARVGGAFF MDYWGQGTLLTVSS
SEQ ID NO: 115	VH de ADN	CAGGTCCAGCTGGTCCAGAGCGGAGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGAGCAAGCG TGAAGGTCTCATGCAAAGCAAGCGGATACACATTTACATCATAACAACATGCA CTGGATCAGGCAGGCTCCAGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGGGACATCTAC CCTGGAAACGGCGATACTAGCTATAATCAGAAAGTTCAAAGCCGGGCCACCC TGACAGCTGACAAGTCTACTAGTACCGTGTATATGGAGCTGAGCTCCCTGCG GTCTGAAGATAACCGCAGTGTACTATTGCGCCAGAGTCGGGGGGGCATTTCCT ATGGATTATTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTCTCCTCC
SEQ ID NO: 116	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGRATLTADKSTSTVYMELSSLRSEDYAVYYCARVGGAFF MDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 117	Cadena pesada de ADN	<p> CAGGTCCAGCTGGTCCAGAGCGGAGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGAGCAAGCG TGAAGGTCTCATGCAAAGCAAGCGGATACACATTTACATCATACAACATGCA CTGGATCAGGCAGGCTCCAGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGGGACATCTAC CCTGGAAACGGCGATACTAGCTATAATCAGAAGTTCAAAGGCCGGGCCACCC TGACAGCTGACAAGTCTACTAGTACCGTGTATATGGAGCTGAGCTCCCTGCG GTCTGAAGATAACCGCAGTGTACTATTGCGCCAGAGTCGGGGGGGCATTTCT ATGGATTATTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTCTCTCCGCTAGCACCA AGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAG CACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCAC CATGCCCAGCACCTGAGTTCTTGGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAA CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCA TCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTA CACCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACC TGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG GAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT ACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA </p>
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 20	VL	<p> DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSTDFLTLSISLQAEDVAVYYCQQRKDPSTFSGG GTKVEIK </p>

SEQ ID NO: 118	VL de ADN	GACATCGTCCTGACACAGTCTCCTGACAGCCTGGCAGTGAGCCTGGGCGAAA GGGCAACCATTAATTGTAGAGCTTCCGAGTCCGTCGAGTACTATGGCACTAG TCTGATGCAGTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCTGATC TATGCAGCTAGCAACGTGGAGTCCGGAGTCCCAGACCGGTTCTCTGGAAGTG GGTCAGGAACCGATTTTACCCTGACAATTAGCTCCCTGCAGGCAGAAGACGT GGCCGTCTACTATTGTCAGCAGAGCCGCAAGGACCCAAGCACATTTCGGAGGG GGGACCAAAGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 22	Cadena ligera	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 119	Cadena ligera de ADN	GACATCGTCCTGACACAGTCTCCTGACAGCCTGGCAGTGAGCCTGGGCGAAA GGGCAACCATTAATTGTAGAGCTTCCGAGTCCGTCGAGTACTATGGCACTAG TCTGATGCAGTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCTGATC TATGCAGCTAGCAACGTGGAGTCCGGAGTCCCAGACCGGTTCTCTGGAAGTG GGTCAGGAACCGATTTTACCCTGACAATTAGCTCCCTGCAGGCAGAAGACGT GGCCGTCTACTATTGTCAGCAGAGCCGCAAGGACCCAAGCACATTTCGGAGGG GGGACCAAAGTGGAATCAAGCGGACTGTTGCTGCACCATCTGTCTTCATCT TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGTTCACCG GTGACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
ABTIM3-hum08		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY

SEQ ID NO: 16	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAFP MDYWGQGT LVT VSS
SEQ ID NO: 120	VH de ADN	CAGGTCCAGCTGGTCCAGAGCGGAGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGAGCAAGCG TGAAGGTCTCATGCAAAGCAAGCGGATACACATTTACATCATAACAATGCA CTGGGTCAGGCAGGCTCCAGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGGGACATCTAC CCTGGAAACGGCGATACTAGCTATAATCAGAAAGTTCAAAGGCCGGGCCACCA TGACAGCTGACAAGTCTACTAGTACCGTGTATATGGAGCTGAGCTCCCTGCG GTCTGAAGATAACCGCAGTGTACTATTGCGCCAGAGTCGGGGGGGCATTTCTC ATGGATTATTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTCTCCTCC
SEQ ID NO: 121	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGNGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAFP MDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNV DHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSOEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 122	Cadena pesada de ADN	CAGGTCCAGCTGGTCCAGAGCGGAGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGAGCAAGCG TGAAGGTCTCATGCAAAGCAAGCGGATACACATTTACATCATAAACATGCA CTGGGTCTAGGCAGGCTCCAGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGGGACATCTAC CCTGGAAACGGCGATACTAGCTATAATCAGAAGTTCAAAGGCCGGGCCACCA TGACAGCTGACAAGTCTACTAGTACCGTGTATATGGAGCTGAGCTCCCTGCG GTCTGAAGATAACCGCAGTGTACTATTGCGCCAGAGTCGGGGGGGCATTTCTT ATGGATTATTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTCTCCTCCGCTAGCACCA AGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAG CACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG GTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTC CAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCA CATGCCCAGCACCTGAGTTCTTGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACGTGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAA CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTG AACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCTCA TCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTA CACCTTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACC TGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGA CGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAG GAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT ACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 40	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 123	VL de ADN	GACATCGTCCTGACACAGTCTCCTGACAGCCTGGCAGTGAGCCTGGGCGAAA GGGCAACCATTAATTGTAGAGCTTCCGAGTCCGTCGAGTACTATGGCACTAG TCTGATGCAGTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCTGATC TATGCAGCTAGCAACGTGGAGTCCGGAGTCCCAGACCGGTTCTCTGGAAGTG GGTCAGGAACCGATTTTACCCTGACAATTAGCTCCCTGCAGGCAGAAGACGT GGCCGTCTACTTTTGTGTCAGCAGAGCCGCAAGGACCCAAGCACATTTCGGAGGG GGGACCAAAGTGAAATCAAG
SEQ ID NO: 42	Cadena Ligera	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 124	Cadena ligera de ADN	GACATCGTCCTGACACAGTCTCCTGACAGCCTGGCAGTGAGCCTGGGCGAAA GGGCAACCATTAATTGTAGAGCTTCCGAGTCCGTCGAGTACTATGGCACTAG TCTGATGCAGTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCTGATC TATGCAGCTAGCAACGTGGAGTCCGGAGTCCCAGACCGGTTCTCTGGAAGTG GGTCAGGAACCGATTTTACCCTGACAATTAGCTCCCTGCAGGCAGAAGACGT GGCCGTCTACTTTTGTGTCAGCAGAGCCGCAAGGACCCAAGCACATTTCGGAGGG GGGACCAAAGTGAAATCAAGCGGACTGTTGCTGCACCATCTGTCTTCATCT TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCT GCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAAC GCCCTCCAATCGGGTAACCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA GAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGTTCACCG GTGACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
ABTIM3-hum09		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY

SEQ ID NO: 52	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAF MDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 53	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGC TGAAAGTTTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGC CTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGGCAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTA CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGTCACTA TCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCCTGA GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCC ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 54	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAF MDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPCCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWI NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 55	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGC TGAAAGTTTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGC CTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGGCAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTA CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGTCACTA TCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCCTGA GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCC ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAAT CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGAC GTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCT TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCAATCGAAGTACGGCCACCGTGCCCGC CTTGTCGCCGCGCCGGAGTTCCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCAC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTC GTCGTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGGTACGTGC ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACTGGCTC AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGT TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGAC TGCCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCC ACGGCCAGCCGGAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAG CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCA GAGGGAAATGTGTTCAAGCTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCAC ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA

SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 57	VL de ADN	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGA GAGCTACACTGAGCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGGAACCCGAGGATAT CGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 58	Cadena ligera	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQAPRLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 59	Cadena ligera de ADN	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGA GAGCTACACTGAGCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGGAACCCGAGGATAT CGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

ES 2 972 425 T3

ABTIM3-hum10		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 60	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGT TTVTVSS
SEQ ID NO: 61	VH de ADN	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCAC TGAAGATTAGCTGTAAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTCCGCCAGATGCCCGGGAAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAAGTTAAGGGGCAAGTCACAA TTAGCGCCGATAAGTCTATTAGCACCGTCTACCTGCAGTGGTCTAGCCTGAA GGCTAGTGACACCGCTATGTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 62	Cadena pesada	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 63	Cadena pesada de ADN	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCAC TGAAGATTAGCTGTAAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTCCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAAGTTTAAGGGGCAAGTCACAA TTAGCGCCGATAAGTCTATTAGCACCGTCTACCTGCAGTGGTCTAGCCTGAA GGCTAGTGACACCGCTATGTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTG TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCACCGTGGACCACAAGCCTTCC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGC CTTGTCCCGCGCCGGAGTTCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCACC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTG GTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACTGGCTG AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTA TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGAAAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGACTCAGA CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTTCACTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQAPRL YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFG GTKVEIK

SEQ ID NO: 57	VL de ADN	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGA GAGCTACACTGAGCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCCTAGACTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACC GACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGGAACCCGAGGATAT CGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 58	Cadena ligera	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGC GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDI ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSFI VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 59	Cadena ligera de ADN	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGA GAGCTACACTGAGCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGTCAAGCCCCCTAGACTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGGATCCCCGCTAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACC GACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGGAACCCGAGGATAT CGCCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum11		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY

SEQ ID NO: 52	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFI MDYWGQGTTTVTVSS
SEQ ID NO: 53	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGC TGAAAGTTTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGC CTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGGCAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTA CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGTCACT TCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCCTGA GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCC ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 54	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVTLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 55	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCG TGAAAGTTTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGGCAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAGGGTAGAGTCACTA TCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCCTGAG GTCTGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTG TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGC CTTGTCGCCGCGCGGAGTTCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCAAC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTG GTCGTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGTGTCATCAGGACTGGCTG AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTA TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGGAACAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGACTCAGA CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTGAGTGTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA

SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 65	VL de ADN	GCTATTTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATA GAGTGACTATCACCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGGAAAGCCCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCCCGAGGACTT CGCTACCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 66	Cadena ligera	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 67	Cadena ligera de ADN	GCTATTTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATA GAGTGACTATCACCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGGAAAGCCCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCCCGAGGACTT CGCTACCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCC GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAA GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGC ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

ES 2 972 425 T3

ABTIM3-hum12		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 60	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGQVTISADKSIQTVYLQWSSLKASDTAMYYCARVGGAFP MDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 61	VH de ADN	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCAC TGAAGATTAGCTGTAAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTCCGCCAGATGCCCGGGAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAAGTTTAAGGGGCAAGTCACAA TTAGCGCCGATAAGTCTATTAGCACCGTCTACCTGCAGTGGTCTAGCCTGAA GGCTAGTGACACCGCTATGTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 62	Cadena pesada	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGQVTISADKSIQTVYLQWSSLKASDTAMYYCARVGGAFP MDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVQLHQL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIQKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 63	Cadena pesada de ADN	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCAC TGAAGATTAGCTGTAAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCA CTGGGTCCGCCAGATGCCCCGGGAAAGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTAC CCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAAGTTTAAGGGGCAAGTCACAA TTAGCGCCGATAAGTCTATTAGCACCGTCTACCTGCAGTGGTCTAGCCTGAA GGCTAGTGACACCGCTATGTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCT ATGGACTACTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTA AGGGCCCGTCCGTGTTCCCCCTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATC CACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCCGCTG TGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCGTCGGTGGTCACGGTGCCTTC ATCTAGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGC AACGTGGACCACAAGCCTTCC AACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCCACCGTGCCCGC CTTGTCCCGCGCCGGAGTTCTCGGCGGTCCCTCGGTCTTTCTGTTCCCACC GAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAAGTGACATGCGTG GTCGTGGACGTGTCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAA CTCCACTTACCGCGTCGTGTCCGTGCTGACGGTGCTGCATCAGGACTGGCTG AACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAACAAGGGACTTCCTAGCTCAA TCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTA TACCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACT TGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCA ACGGCCAGCCGAAAACAACCTACAAGACCACCCCTCCGGTGCTGGACTCAGA CGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAG GAGGGAAATGTGTTTCACTGTTCTGTGATGCATGAAGCCCTGCACAACCACT ACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTS
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 65	VL de ADN	GCTATTTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATA GAGTGACTATCACCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGGAAAGCCCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCCCGAGGACTT CGCTACCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 66	Cadena ligera	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 67	Cadena ligera de ADN	GCTATTTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATA GAGTGACTATCACCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCCGGGAAAGCCCCCTAAGCTGCTGATC TACGCCGCCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCTAGGTTTAGCGGTAGCG GTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCCCGAGGACTT CGCTACCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGA GGCACTAAGGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum13		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 68	VH	

SEQ ID NO: 69	VH de ADN	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGSGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFI MDYWGQGTTTVTVSS</p> <p>CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCG TCAAGGTGTCCTGCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCA CTGGGTCCGACAAGCCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTAC CCCGGCAGTGGTGACACTTCCTATAAACCAGAAGTTCAAGGGCCGAGTCACTA TTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTCTTCTCTGAG ATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCA ATGGACTATTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCA</p>
SEQ ID NO: 70	Cadena pesada	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGSGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFI MDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSOEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK</p>
SEQ ID NO: 71	Cadena pesada de ADN	<p>CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCG TCAAGGTGTCCTGCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCA CTGGGTCCGACAAGCCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTAC CCCGGCAGTGGTGACACTTCCTATAAACCAGAAGTTCAAGGGCCGAGTCACTA TTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTCTTCTCTGAG ATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCA ATGGACTATTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCTACAA AGGGCCCCCTCCGTCTTTCCACTCGCGCCGTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGTC AACTGCCGCTCTGGGTTCCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAGCCGGTGACA GTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTTCATACCTTCCCCGCAG TCCTCCAGTCCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCCTC CAGCTCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCT AATACCAAGGTGGATAAAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCCTGCCCGC CTTGCCCAGCTCCGGAGTTCTTGGGCGGACCATCCGTTTTCTTGTTTCCACC CAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAAGTGACTTGCGTT GTGGTGGACGTCTCCCAGGAGGACCCAGAAGTGCAATTCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAAAACCAAGGGAGGAACAGTTTAA TTCAACATATAGGGTTGTGTCTGTGCTGACGGTTCTGCATCAGGACTGGCTG AACGGAAGGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGGACTGCCAAGCTCTA TCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTAGAGAGCCCCAAGTTTA CACCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTTGACA TGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAA ATGGCCAGCCTGAGAACAACCTATAAGACTACTCCTCCCGTGTGGACTCCGA CGGGAGCTTTTTCTGTATTCCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAA GAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCATAACCATT ATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCACTGGGCAAA</p>

SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 125	VL de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAA
SEQ ID NO: 66	Cadena ligera	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 126	Cadena ligera de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGAC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAACGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATC TTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAAGTGGTACAGCATCCGTGGTTTTGTC GCTGAACAATTTTACCCCAGGGAGGCTAAGGTCCAGTGGAAAGTCGATAAG GCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACTCTAAGC ATAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGA GAAGCACAAGGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCCTCCCCA GTTACCAAATCTTTCAACAGAGGAGAATGT

ABTIM3-hum14		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 72	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARVGGAF P MDYWGQGTTTVTVSS
SEQ ID NO: 73	VH de ADN	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCG TCAAGGTGTCCTGCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCA CTGGGTCCGACAAGCCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTAC CCCGGCCAGGGTGACACTTCCTATAACCAGAAGTTCAAGGGCCGAGTCACTA TTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAAC TCTCTCTCTGAG ATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCA ATGGACTATTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 74	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARVGGAF P MDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPS NTKVDKRVESKYGPFCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 75	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCG TCAAGGTGTCCTGCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCA CTGGGTCCGACAAGCCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTAC CCCGGCCAGGGTGACACTTCCTATAACCAGAAAGTTCAAGGGCCGAGTCACTA TTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTTCTCTGAG ATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCA ATGGACTATTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCTACAA AGGGCCCCCTCCGTCTTTCCACTCGCGCCGTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGTC AACTGCCGCTCTGGGTGCTTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAGCCGGTGACA GTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTTCATACCTTCCCCGCAG TCCTCCAGTCCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTCACAGTGCCCTC CAGCTCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCT AATACCAAGGTGGATAAAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCCACCCTGCCCGC CTTGCCAGCTCCGGAGTTCTTGGGCGGACCATCCGTTTTCTTGTTCACC CAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAAGTGACTTGCGTT GTGGTGGACGTCTCCCAGGAGGACCCAGAAGTGCAATTCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTAA TTCAACATATAGGGTTGTGTCTGTGCTGACGGTTCTGCATCAGGACTGGCTG AACGGAAGGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGGACTGCCAAGCTCTA TCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTAGAGAGCCCCAAGTTTA CACCTTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTTGACA TGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAA ATGGCCAGCCTGAGAACAACCTATAAGACTACTCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGGAGCTTTTTCTGTATTCCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAA GAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCATAACCATT ATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCACTGGGCAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTS
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGRVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 125	VL de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAA
SEQ ID NO: 66	Cadena ligera	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGDTFTLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 126	Cadena ligera de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAACGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATCT TTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAAGTGGTACAGCATCCGTGGTTTTGTCT GCTGAACAATTTTTACCCCAGGGAGGCTAAGGTCCAGTGGAAAGTCGATAAC GCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACTCTAAGC ATAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGA GAAGCACAAGGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCCTCCCCA GTTACCAAATCTTTCAACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum15		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTF TSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY

SEQ ID NO: 76	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGSGDTSYNQKFKGQVTISADKSISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 77	VH de ADN	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTT TGAAAATTCCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCCTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAC CCAGGCAGTGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCCTCACTTAA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 78	Cadena pesada	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGSGDTSYNQKFKGQVTISADKSISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 79	Cadena pesada de ADN	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTT TGAAAATTTTCCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAC CCAGGCAGTGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCTACTTAA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCCTCTACAA AGGGCCCCCTCCGTCTTTCCACTCGCGCCGTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGTC AACTGCCGCTCTGGGTTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAGCCGGTGACA GTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTTCATACCTTCCCCGCAG TCCTCCAGTCCCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTCACAGTGCCCTC CAGCTCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCT AATACCAAGGTGGATAAAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCCCACCCTGCCCCGC CTTGCCCAGCTCCGGAGTTCCTGGGCGGACCATCCGTTTTCTTGTTTCCACC CAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCTGAAGTGACTTGCGTT GTGGTGGACGTCTCCCAGGAGGACCCAGAAGTGAATTCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTAA TTCAACATATAGGGTTGTGTCTGTGCTGACGGTTCTGCATCAGGACTGGCTG AACGAAAAGGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGGACTGCCAAGCTCTA TCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTAGAGAGCCCCAAGTTTA CACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTTGACA TGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAA ATGGCCAGCCTGAGAACAACCTATAAGACTACTCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGGAGCTTTTTCTGTATTCCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAA GAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCATAACCATT ATACTCAGAAAAGTCTCTCTCTGTCACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISILEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 127	VL de ADN	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTCACCAGGAGAGC GCGCCACCCTGAGCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATC CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATC TACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCCAGATTTTCTGGGTCA GATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGGACA TGCTGTGTATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGG GGAACCAAGGTAGAGATAAAG
SEQ ID NO: 58	Cadena ligera	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 128	Cadena ligera de ADN	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTCACCAGGAGAGC GCGCCACCCTGAGCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATC CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATC TACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCCAGATTTTCTGGGTCA GATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGGACAT TGCTGTGTATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGT GGAACCAAGGTAGAGATAAAGCGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTCATCT TTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAGTGGTACAGCATCCGTGGTTTGTCT GCTGAACAATTTTTACCCAGGGAGGCTAAGGTCCAGTGGAAGTTCGATAAC
ABTIM3-hum16		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 80	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYYCARVGGAFP MDYWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO: 81	VH de ADN	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGT? TGAAAATTTTCCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTACGTCCTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAO CCAGGCCAGGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCCTCACTTA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 82	Cadena pesada	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFSTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGQVTISADKSIISTVYLQWSSLKASDTAMY YCARVGGAFI MDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWI NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 83	Cadena pesada de ADN	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGT? TGAAAATTTTCCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTACGTCCTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAO CCAGGCCAGGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCCTCACTTA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCCTCTACAA AGGGCCCCCTCCGTCCTTCCACTCGCGCCGTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGT AACTGCCGCTCTGGGTTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAGCCGGTGACA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS

SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 127	VL de ADN	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTCCACCAGGAGAGC GCGCCACCCTGAGCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATC CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATC TACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCCAGATTTTCTGGGTCAG GATCTGGAAGTACTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGGACAT TGCTGTGTATTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGT GGAACCAAGGTAGAGATAAAG
SEQ ID NO: 58	Cadena ligera	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 128	Cadena ligera de ADN	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTCCACCAGGAGAGC GCGCCACCCTGAGCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATC CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATC TACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCCAGATTTTCTGGGTCAG GATCTGGAAGTACTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGGACAT TGCTGTGTATTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGT GGAACCAAGGTAGAGATAAAGCGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTCATCT TTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAGTGGTACAGCATCCGTGGTTTGTCT GCTGAACAATTTTACCCAGGGAGGCTAAGGTCCAGTGGAAAGTCGATAAC GCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACTCTAAGG ATAGCACTTATAGTCTGTCCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGA GAAGCACAAGGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCCTCCCCA GTTACCAAATCTTTCAACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum17		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD

SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFFMDY
SEQ ID NO: 68	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGSGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFF MDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 69	VH de ADN	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCO TCAAGGTGTCTGCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCA CTGGGTCCGACAAGCCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTAC CCCGGCAGTGGTGACACTTCCTATAACCAGAAGTTCAAGGGCCGAGTCACTA TTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTTCTCTGAC ATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCA ATGGACTATTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 70	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGSGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFF MDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWI NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 71	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCG TCAAGGTGTCCTGCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCA CTGGGTCCGACAAGCCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTAC CCCGGCAGTGGTGACACTTCTATAACCAGAAGTTCAAGGGCCGAGTCACTA TTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTTCTCTGAG ATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCA ATGGACTATTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCTACAA AGGGCCCCCTCCGTCTTTCCACTCGCGCCGTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGTC AACTGCCGCTCTGGGTGGCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAGCCGGTGACA GTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTTCATACCTTCCCCGCAG TCCTCCAGTCCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTCACAGTGCCCTC CAGCTCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCT AATACCAAGGTGGATAAAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCCACCCTGCCCCG CTTGCCCAGCTCCGGAGTTCTGGGCGGACCATCCGTTTTCTTGTTCACC CAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAAGTGACTTGCGTT GTGGTGGACGTCTCCCAGGAGGACCCAGAAGTGCAATTCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTAA TTCAACATATAGGGTTGTGTCTGTGCTGACGGTTCTGCATCAGGACTGGCTG AACGAAAAGGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGGACTGCCAAGCTCTA TCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTAGAGAGCCCCAAGTTTA CACCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTTGACA TGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAA ATGGCCAGCCTGAGAACAACCTATAAGACTACTCCTCCCGTGCTGGACTCCGA CGGGAGCTTTTTCTGTATTCCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAA GAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCATAACCATT ATACTCAGAAAAGTCTCTCTCTGTCACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 127	VL de ADN	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTCCACCAGGAGAGC GCGCCACCCTGAGCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATC CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATC TACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCCAGATTTTCTGGGTCAG GATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGGACAT TGCTGTGTATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGT GGAACCAAGGTAGAGATAAAG
SEQ ID NO: 58	Cadena ligera	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 128	Cadena ligera de ADN	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTCCACCAGGAGAGC GCGCCACCCTGAGCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATC CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATC TACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCCAGATTTTCTGGGTCAG GATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGGACAT TGCTGTGTATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGT GGAACCAAGGTAGAGATAAAGCGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTCATCT TTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAGTGGTACAGCATCCGTGGTTTGTCT GCTGAACAATTTTACCCCAGGGAGGCTAAGGTCCAGTGGAAAGTCGATAAC GCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACTCTAAGG ATAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGA GAAGCACAAGGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCCTCCCCA GTTACCAAATCTTTCAACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum18		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY

SEQ ID NO: 72	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 73	VH de ADN	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCG TCAAGGTGTCCTGCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCA CTGGGTCCGACAAGCCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTAC CCCGGCCAGGGTGACACTTCCTATAACCAGAAGTTCAAGGGCCGAGTCACTA TTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTTCTCTGAG ATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCA ATGGACTATTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 74	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGRVTITADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTITCNVDHKPS NPKVDKRVESKYGPCCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SPTPEVTCV VVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTFLVLDH NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSPWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 75	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCG TCAAGGTGTCCTGCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCA CTGGGTCCGACAAGCCCCTGGGCAGGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTAC CCCGGCCAGGGTGACACTTCCTATAACCAGAAGTTCAAGGGCCGAGTCACTA TTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTTCTCTGAG ATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCA ATGGACTATTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCAGCTCTACAA AGGGCCCCCTCCCTCTTTCCACTCGCGCCGTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGTC AACTGCGCTCTGGGTTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAGCCGGTGACA GTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTTCATACCTTCCCCGAG TCCTCCAGTCCCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTCACAGTGCCTC CAGCTCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCT AATACCAAGGTGGATAAAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCCCACCTGCCCCG CTTGCCCCAGCTCCGGAGTTCTGGGCGGACCATCCGTTTTCTTGTTCACCC CAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAAGTGACTTGGCTT GTGGTGGAGCTCTCCAGSAGGACCCAGAAGTGCAATTCAACTGCTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAAAACCAAGGGAGGAACAGTTTAA TTCAACATATAGGGTTGTGTCTGTGCTGACGGTTCTGCATCAGGACTGGCTG AACGGAAAGGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGSACTGCCAAGCTCTA TCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTAGAGAGCCCCAAGTTTA CACCTTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTTGACA TGCTTGGTGAAGGGCTTCTACCTAGCGATATTGCGGTGAGTGGGAGTCAA ATGGCCAGCCTGAGAACAACCTATAAGACTACTCCTCCCGTGTGAGTCCGA CGGGAGCTTTTTCTGTATTCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAA GAGGGGAATGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGCTCTCCATAACCAATT ATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ

SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISISLEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 127	VL de ADN	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTACCAGGAGAGC GCGCCACCCTGAGCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATC CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATC TACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCCAGATTTTCTGGGTCA GATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGGACAT TGCTGTGTATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGT GGAACCAAGGTAGAGATAAAG
SEQ ID NO: 58	Cadena ligera	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLI YAASNVESGIPARFSGSGSGTDFTLTISISLEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDI ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSI VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 128	Cadena ligera de ADN	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTACCAGGAGAGC GCGCCACCCTGAGCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATC CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATC TACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCCAGATTTTCTGGGTCA GATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGGACA TGCTGTGTATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGT GGAACCAAGGTAGAGATAAAGCGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATC TTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAAGTGGTACAGCATCCGTGGTTTGTCT GCTGAACAATTTTTACCCCAGGGAGGCTAAGGTCCAGTGGAAAGTCGATAAC GCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACTCTAAGC ATAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGA GAAGCACAAGGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCCTCCCCA GTTACCAAATCTTTCAACAGAGGAGAATGT

ES 2 972 425 T3

ABTIM3-hum19		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 76	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGSGDTSYNQKFKGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGT TVTVSS
SEQ ID NO: 77	VH de ADN	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTT TGAAAATTTCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCCTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAC CCAGGCAGTGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCACTTAA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 78	Cadena pesada	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGSGDTSYNQKFKGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWI NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 79	Cadena pesada de ADN	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGT TGAAAATTTCTTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTTACAATATGC CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATA CCAGGCAGTGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCACTTA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCCTCTACAA AGGGCCCCTCCGTCTTTCCACTCGCGCCGTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGT AACTGCCGCTCTGGGTTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAGCCGGTGAC GTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTTCATACCTTCCCCGCA TCCTCCAGTCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCCTC CAGCTCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTC AATACCAAGGTGGATAAAAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCCTGCCCG CTTGCCCGAGCTCCGGAGTTCTTGGGCGGACCATCCGTTTTCTTGTTCAC CAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCGAACCCCTGAAGTGACTTGCCT GTGGTGGACGTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTGCAATTCAACTGGTACGTG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTA TTCAACATATAGGGTTGTGTCTGTGCTGACGGTTCTGCATCAGGACTGGCT AACGGAAAGGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGGACTGCCAAGCTCT TCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTAGAGAGCCCCAAGTTT CACCTTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTTGAC TGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCA ATGGCCAGCCTGAGAACAACCTATAAGACTACTCCTCCCGTGCTGGACTCCG CGGGAGCTTTTTCTTGTATTCCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCA GAGGGGAATGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCATAACCAT ATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTS
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 125	VL de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAA
SEQ ID NO: 66	Cadena ligera	AIQLTQSPSSLSASVGRVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 126	Cadena ligera de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAACGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATCT TTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAAGTGGTACAGCATCCGTGGTTTGTCT GCTGAACAATTTTTACCCCAGGGAGGCTAAGGTCCAGTGGAAGTCGATAAC GCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACTCTAAGG ATAGCACTTATAGTCTGTCCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGA GAAGCACAAAGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCCTCCCCA GTTACCAAATCTTTCAACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum20		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY

SEQ ID NO: 80	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFSTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGTTTVTVSS
SEQ ID NO: 81	VH de ADN	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTT TGAAAATTTCCCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAC CCAGGCCAGGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCACTTAA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 82	Cadena pesada	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFSTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPS NTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVTLHQLDL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
SEQ ID NO: 83	Cadena pesada de ADN	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTT TGAAAATTTCCCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAC CCAGGCCAGGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCACTTAA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCCTCTACAA AGGGCCCCCTCCGTCTTTCCACTCGCGCCGTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGTC AACTGCCGCTCTGGGTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAGCCGGTGACA GTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTTACATCTTCCCCGAG TCCTCCAGTCTCAGGCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCCTC CAGCTCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCT AATACCAAGGTGGATAAAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCCCACCCTGCCCGC CTTGCCCGAGCTCCGGAGTTCTTGGGCGGACCATCCGTTTTCTTGTTTCCACC CAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAAGTGACTTGCGTT GTGGTGGACGTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTGCAATTCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTAA TTCAACATATAGGGTTGTGTCTGTGCTGACGGTTCTGCATCAGGACTGGCTG AACGGAAGGAATACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGGACTGCCAAGCTCTA TCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTAGAGAGCCCCAAGTTTA CACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTTGACA TGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAA ATGGCCAGCCTGAGAACAACATAAGACTACTCCTCCCGTGTGGACTCCGA CGGGAGCTTTTTCTGTATTCCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAA GAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCTCTCCATAACCATT ATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCACTGGGCAAA

ES 2 972 425 T3

SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 125	VL de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCGG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAA
SEQ ID NO: 66	Cadena ligera	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNRFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 126	Cadena ligera de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAACGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATCT TTCCACCTAGCGACGAGCAACTCAAAAGTGGTACAGCATCCGTGGTTTGTCT GCTGAACAATTTTTACCCCAGGGAGGCTAAGGTCCAGTGGAAAGTCGATAAC GCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGACTCTAAGG ATAGCACTTATAGTCTGTCCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGA GAAGCACAAAGGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCCTCCCCA GTTACCAAATCTTTCAACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum21		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 84	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDI PGQGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAF MDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 85	VH de ADN	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGAGCAAGCG TGAAGGTCTCATGCAAAGCAAGCGGATACACATTTACATCATAACAATGCA CTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGGGACATCTAC CCTGGACAGGGCGATACTAGCTATAATCAGAAAGTTCAAAGGCCGGGCCACCA TGACAGCTGACAAGTCTACTAGTACCGTGTATATGGAAGTGAAGTCCCTGCG GTCTGAAGATAACCGCAGTGTACTATTGCGCCAGAGTCGGGGGGGCATTTCT ATGGATTATTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTCTAGCTCA

SEQ ID NO: 86	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIY PGQGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMEISSLRSED TAVYYCARVGGAF P MDYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 87	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGAGCAAGCG TGAAGGTCTCATGCAAAGCAAGCGGATACACATTTACATCATAACAATGCA CTGGGT CAGGCAGGCTCCAGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGGGACATCTAC CCTGGACAGGGCGATACTAGCTATAATCAGAAGTTCAAAGCCGGGCCACCA TGACAGCTGACAAGTCTACTAGTACCGTGTATATGGAAGTGAAGTCCCTGCG GTCTGAAGATACCGCAGTGTACTATTGCGCCAGAGTCGGGGGGGCATTTCTT ATGGATTATTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTCTAGCTCAGCTAGCACCA AGGGCCCCAGCGTGTTCCTTGGCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGG CACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACC GTGTCTTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCAG CAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACA CCTGCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCT GTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCTTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGCCGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACT GGTACGTGGACGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGA GCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACCCAG GACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGG CAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCC CCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTG TCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAAC TACAAGACACCCCCCAGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCACTGACGTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGC ACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTS LMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTS L
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS

SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 88	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK
SEQ ID NO: 89	VL de ADN	GACATCGTCCTGACACAGTCTCCTGACAGCCTGGCAGTGAGCCTGGGCGAAA GGGCAACCATTAATTGTAGAGCTTCCGAGTCCGTCGAGTACTATGGCACTAG TCTGATGCAGTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCTGATC TATGCAGCTAGCAACGTGGAGTCCGGAGTCCCAGACCGGTTCTCTGGAAGTG GGTCAGGAACCGATTTTACCCTGACAATTAGCTCCCTGCAGGCAGAAGACGT GGCCGTCTACTATTGTCAGCAGAGCCGCAAGGACCCAAGCACATTTCGGAGGG GGGACCAAAGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 90	Cadena ligera	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLI YAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 91	Cadena ligera de ADN	GACATCGTCCTGACACAGTCTCCTGACAGCCTGGCAGTGAGCCTGGGCGAAA GGGCAACCATTAATTGTAGAGCTTCCGAGTCCGTCGAGTACTATGGCACTAG TCTGATGCAGTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCTGATC TATGCAGCTAGCAACGTGGAGTCCGGAGTCCCAGACCGGTTCTCTGGAAGTG GGTCAGGAACCGATTTTACCCTGACAATTAGCTCCCTGCAGGCAGAAGACGT GGCCGTCTACTATTGTCAGCAGAGCCGCAAGGACCCAAGCACATTTCGGAGGG GGGACCAAAGTGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATC TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCC GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAA GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum22		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY

SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 92	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 93	VH de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCG TGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCTACAACATGCA CTGGGTGCGCCAGGCCCTGGACAGGGACTGGAATGGATGGGCGACATCTAC CCCGGCCAGGGCGACACCTCCTACAACCAGAAATTC AAGGGCAGAGTGACCA TGACCCGGGACACCAGCACCTCCACCGTGTACATGGAAGT GAGCAGCCTGCG GAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCC ATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCTCA
SEQ ID NO: 94	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIY PGQGDTSYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARVGGAFP MDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVA VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 95	Cadena pesada de ADN	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCTACAACATGCACCTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGACAGGGACTGGAATGGATGGGCGACATCTACCCCGGCCAGGGCGACACCTCCTACAACCAGAAATTCAAGGGCAGAGTGACCATGACCCGGGACACCAGCACCTCCACCGTGTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCCATGGACTATTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCCCTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCTTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGCCGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGGCAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGGCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCAACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCGTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 96	VL	AIRLTQSPSSFSASTGDRVITITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK

SEQ ID NO: 97	VL de ADN	GCCATCAGACTGACCCAGAGCCCCAGCTCCTTTAGCGCCAGCACCGGCGACA GAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGAATATTACGGCACCAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATC TACGCCGCCAGCAATGTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCTCTG GCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGGACTT CGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCCGGAAGGACCCCAGCACATTTGGCGGA GGCACCAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 98	Cadena ligera	AIRLTQSPSSFSASTGDRVITITCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQSEDFATYYCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 99	Cadena ligera de ADN	GCCATCAGACTGACCCAGAGCCCCAGCTCCTTTAGCGCCAGCACCGGCGACA GAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGAATATTACGGCACCAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATC TACGCCGCCAGCAATGTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCTCTG GCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGGACTT CGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCCGGAAGGACCCCAGCACATTTGGCGGA GGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum23		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY

SEQ ID NO: 100	VH	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGQVTISADKSISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 101	VH de ADN	CAGGTGCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAAACCAGGAGAGAGTT TGAAAATTTCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCCTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAC CCAGGCAATGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCCTCACTTAA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 102	Cadena pesada	QVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMGDIY PGNGDTSYNQKFKGQVTISADKSISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFP MDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVAVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALAAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 103	Cadena pesada de ADN	<p>CAGGTGCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTT TGAAAATTTTCCTGCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCA CTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATAC CCAGGCAATGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTCAAAAGGACAGGTGACGA TCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCACTTAA AGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCA ATGGACTATTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCTAGCACCA AGGGCCCCCAGCGTGTTCCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGG CACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACC GTGTCCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCG TGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCCGAG CAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGC</p> <p>AACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACA CCTGCCCCCCCCTGCCCAGCCCCAGAGCTGCTGGGCGGACCCCTCCGTGTTCCCT GTTCCCCCCCCAAGCCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTG ACCTGCGTGGTGGTGGCCGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGA GCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAG GACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGG CAGCCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCC CCAGGTGTACACCCTGCCCCCCTCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTG TCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCAGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTACGTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGC ACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG</p>
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 104	VL	<p>AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASESVEYYGTSLMQWYQQKPKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIK</p>

SEQ ID NO: 105	VL de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGGCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAA
SEQ ID NO: 106	Cadena ligera	AIQLTQSPSSLSASVGDRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLI YAASNVESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 107	Cadena ligera de ADN	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACC GAGTGACAATCACCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAG CCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATA TATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCAAGATTCTCCGGTTCCG GGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTTCCCTTCAGCCAGAGGACTT CGCTACGTACTTTTGGCAGCAGTCACGGAAAGATCCCTCTACTTTTCGGAGGT GGGACAAAAGTCGAAATTAAACGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCT TCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACCTTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCGAGCAGGACAGCAAGG ACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGA GAAGCATAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCC GTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGTGC

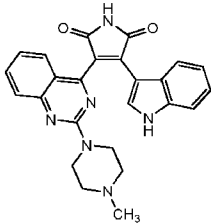
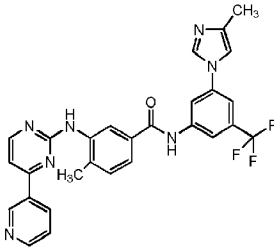
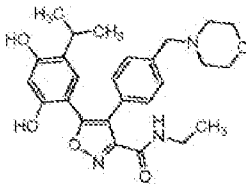
Tabla 5. Secuencias de aminoácidos de la región constante de las cadenas pesadas de IgG humana y la cadena ligera kappa humana

HC	Secuencia de aminoácidos de la región constante mutante de IgG4 (S228P) (numeración EU)
	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIETISKAK GQPREPQVYT LPFSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPEVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO: 108)
LC	Secuencia de aminoácidos de la región constante kappa humana
	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (SEQ ID NO: 109)
HC	Secuencia de aminoácidos de la región constante mutante de IgG4 (S228P) que ata la lisina del extremo C-terminal (K) (numeración EU)
	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRVES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIETISKAK GQPREPQVYT LPFSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPEVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO: 110)
HC	IgG1 tipo silvestre
	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVES KSCDKTHTCP PCPAPPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTF EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPEV LQSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFCSSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 111)
HC	Secuencia de aminoácidos de la región constante mutante de IgG1 (N297A) (numeración EU)
	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRVES KSCDKTHTCP PCPAPPELLGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTF EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYA STYRVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPEV LQSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFCSSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 112)
HC	Secuencia de aminoácidos de la región constante mutante de IgG1 (D265A, P329A) (numeración EU)

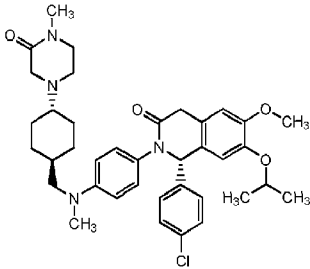
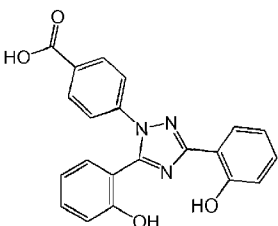
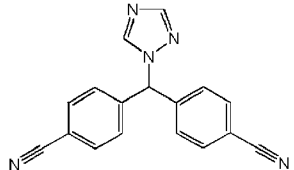
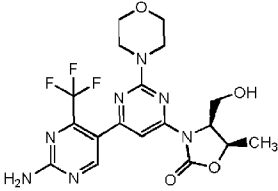
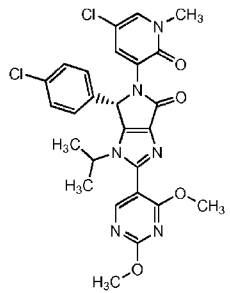
	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFFAVLQSS GLYSLSSVVT VFSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKREVP KSCDKTHTCP PCPAPPELLGG PSVFLFPPPKP KDTLMISRTF EVTCVVVAVS HEDFEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LAAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSTI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LQSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 113)
HC	Secuencia de aminoácidos de la región constante matante de IgG1 (L234A, L235A) (numeración EU)
	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFFAVLQSS GLYSLSSVVT VFSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKREVP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPPKP KDTLMISRTF EVTCVVVDVS HEDFEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSTI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LQSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114)

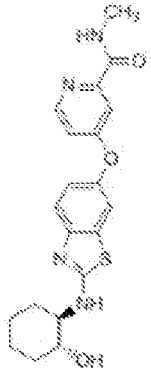
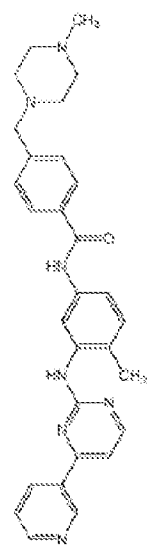
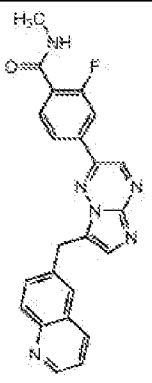
Tabla 6. Agentes terapéuticos seleccionados que pueden administrarse en combinación con las moléculas de anticuerpo anti-TIM-3, por ejemplo, como un agente único o en combinación con otros inmunomoduladores descritos en el presente documento. Cada publicación enumerada en esta Tabla se referencia en el presente documento en su totalidad, incluyendo todas las fórmulas estructurales en ella.

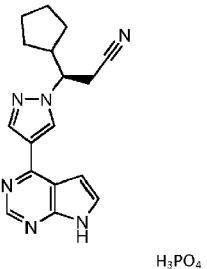
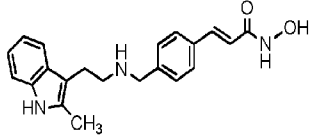
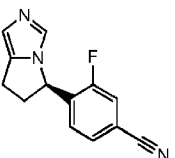
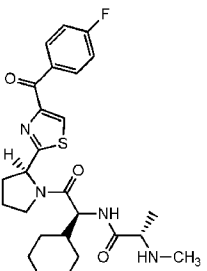
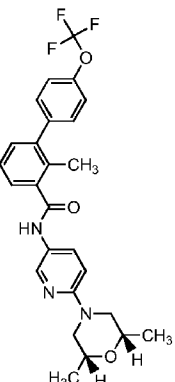
5

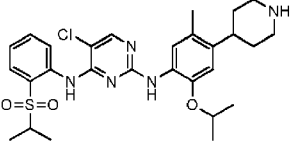
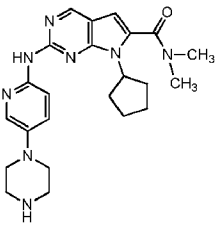
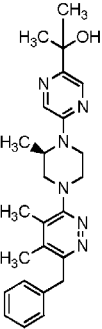
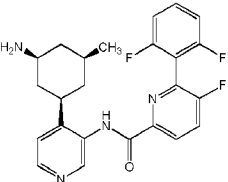
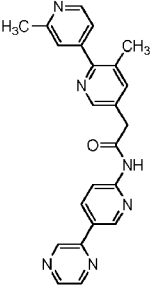
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
A1	Sotrastaurina		EP 1682103
			US 2007/142401
			WO 2005/039549
A2	Nilotinib HCl monohidrato TASIGNA®	 HCl • H ₂ O	WO 2004/005281
			US 7,169,791
A3			WO 2010/060937
			WO 2004/072051
			EP 1611112
			US 8,450,310

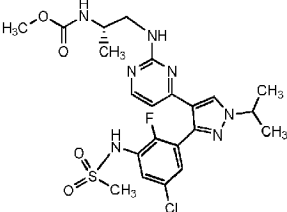
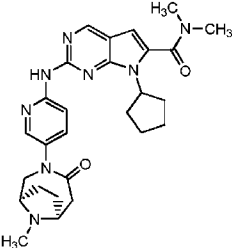
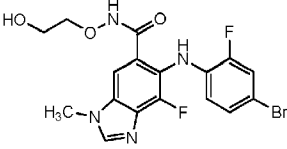
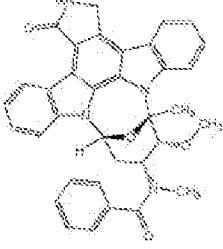
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
A4	Dactolisib		WO 2006/122806
A5			US 8,552,002
A6	Buparlisib		WO 2007/084786
A7			WO 2009/141386 US 2010/0105667
A8			WO 2010/029082
A9		Inhibidor de CYP17	WO 2010/149755 US 8,263,635 B2 EP 2445903 B1

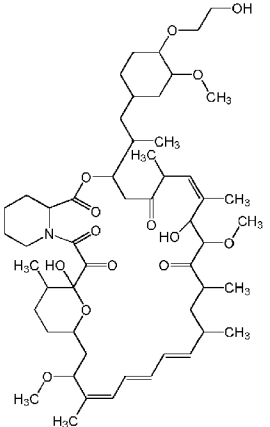
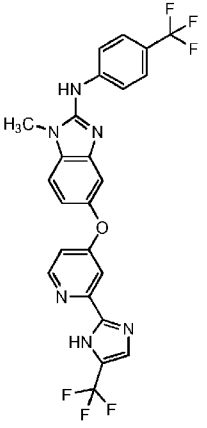
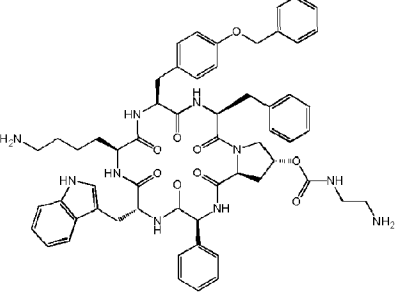
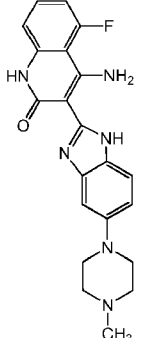
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
A10			WO 2011/076786
A11	Deferasirox EXJADE®		WO 1997/049395
A12	Letrozol FEMARA®		US 4,978,672
A13			WO 2013/124826
			US 2013/0225574
A14			WO 2013/111105

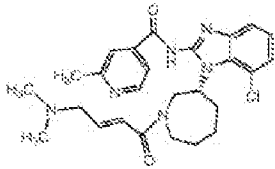
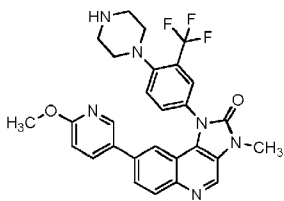
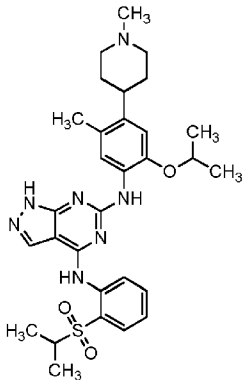
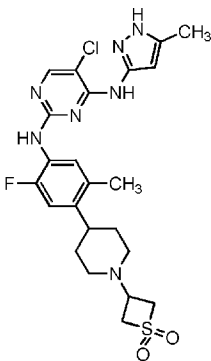
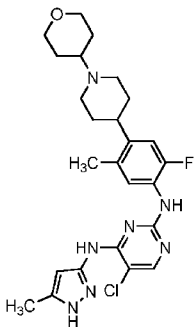
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
A15			WO 2005/073224
A16	Mesilato de Imatinib GLEEVEC®	 Mesilato	WO 1999/003854
A17		 Sal diclorhidrato	EP 2099447 US 7,767,675 US 8,420,645
A18	Fosfato de Ruxolitinib JAKAFI®		WO 2007/070514 EP 2474545

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
		 H ₃ PO ₄	US 7,598,257
			WO 2014/018632
A19	Panobinostat		WO 2014/072493
			WO 2002/022577
			EP 1870399
A20	Osilodrostat		WO 2007/024945
A21			WO 2008/016893
			EP 2051990
			US 8,546,336
A22	Fosfato de Sonidegib		WO 2007/131201
			EP 2021328
			US 8,178,563
A23	ceritinib ZYKADIA™		WO 2008/073687

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
			US 8,039,479
A24			US 8,415,355
			US 8,685,980
A25			WO 2010/007120
A26		Anticuerpo monoclonal humano para PRLR	US 7,867,493
A27			WO 2010/026124
			EP 2344474
			US 2010/0056576
			WO 2008/106692
A28			WO 2010/101849

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
A29	Encorafenib		WO 2011/025927
A30			WO 2011/101409
A31		Anticuerpo monoclonal humano para HER3	WO 2012/022814
			EP 2606070
			US 8,735,551
A32		Conjugado fármaco anticuerpo (ADC)	WO 2014/160160Ab: 12425 (véase la Tabla 1. Párrafo ([00191]) Enlazador: SMCC (véase párrafo [00117] Carga útil: DM1 (véase párrafo [00111] Véase también la reivindicación 29
A33		Anticuerpo monoclonal o Fab para M-CSF	WO 2004/045532
A34	Binimetinib		WO 2003/077914
A35	Midostaurin		WO 2003/037347
			EP 1441737
			US 2012/252785

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
A36	Everolimus AFINITOR®		WO 2014/085318
A37			WO 2007/030377 US 7,482,367
A3 8	Diaspartato de Pasireótido SIGNIFOR®		WO 2002/010192 US 7,473,761
A39	Dovitinib		WO 2009/115562 US 8,563,556

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
A40			WO 2013/184757
A41			WO 2006/122806
A42			WO 2008/073687 US 8,372,858
A43			WO 2010/002655 US 8,519,129
A44			WO 2010/002655 US 8,519,129

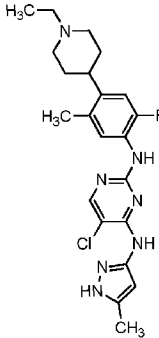
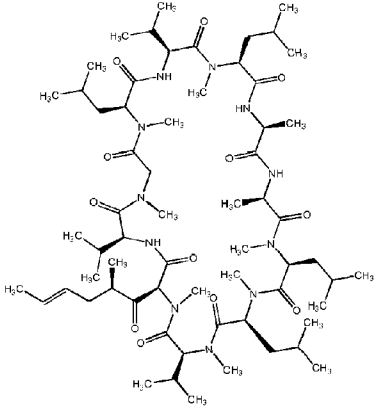
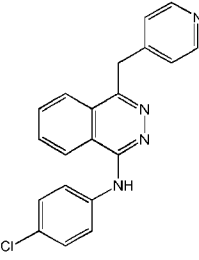
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto	Patentes/ Publicaciones de las solicitudes de Patente
A45			WO 2010/002655
A46	Valspodar AMDRAY ^{MR}		EP 296122
A47	Succinato de Vatalanib	 <p>succinato</p>	WO 98/35958
A48		Inhibidor de IDH	WO 2014/141104
A49		Inhibidor de BCR-ABL	WO 2013/171639 WO 2013/171640 WO 2013/171641 WO 2013/171642
A50		Inhibidor de cRAF	WO 2014/151616
A51		Inhibidor competitivo de ERK1/2 ATP	PCT/US2014/062913

Tabla 7. Véanse los ejemplos.

Tabla 8. Véanse los ejemplos.

Tabla 9. Véanse los ejemplos.

Tabla 10. Véanse los ejemplos.

5 Tabla 11. Véanse los ejemplos.

Tabla 12. Véanse los ejemplos.

Tabla 13. Véanse los ejemplos.

Tabla 14. Véanse los ejemplos.

Tabla 15. Véanse los ejemplos.

10 Tabla 16. Véanse los ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1. Caracterización de ABTIM3 y otros anticuerpos anti-TIM-3.

Los paneles de anticuerpos anti-TIM-3 se analizaron para determinar su unión a las células que expresan TIM-3. Las constantes de disociación (K_D) de dos de estos anticuerpos, ABTIM3 y anti-TIM-3 # 2, según se mide por resonancia de plasmón de superficie, se resumen en la Figura 2A. En las Figuras 2B y 2C, la unión de varios anticuerpos anti-TIM-3, incluido ABTIM3, a células transfectadas con TIM-3 humana se midió usando citometría de flujo. A continuación, se analizaron tres anticuerpos, ABTIM3, anti-TIM-3 # 2, y anti-TIM-3 # 3, y un anticuerpo de control para determinar la capacidad de unirse al TIM-3 de cynomolgus en células transfectadas con cynoTIM-3. La Figura 2D muestra que ABTIM3 tiene la afinidad más fuerte por TIM-3 de cynomolgus de los tres anticuerpos probados. La Figura 2E prueba siete anticuerpos anti-TIM-3 humano para determinar la capacidad de unirse a TIM-3 de cynomolgus, y muestra que ABTIM3 se une con la afinidad más alta. En general, los experimentos indican que ABTIM3 tiene una afinidad más fuerte (subnanomolar) tanto para TIM-3 humana como de cynomolgus.

La capacidad de tres anticuerpos anti-TIM-3, incluido ABTIM3, para unirse a TIM-4 humana expresada en células CHO y a TIM-3 murina expresado en células también se midió mediante citometría de flujo. El TIM-3 humana tiene aproximadamente un 23% de identidad de secuencia con el TIM-4 humana. El TIM-3 murino tiene aproximadamente un 66% de identidad de secuencia con el TIM-3 humana y un 64% de identidad de secuencia con el TIM-3 de cynomolgus. Los resultados de estos ensayos muestran que ABTIM3 no se une a TIM-4 humana. ABTIM3 tampoco tiene reactividad cruzada con TIM-3 murina. Tomados junto con los resultados del ensayo de unión descritos anteriormente, el anticuerpo ABTIM3 es específico para TIM-3 humana y de cynomolgus.

30 En un experimento de bloqueo cruzado, ABTIM3 mostró un bloqueo cruzado de anti-TIM-3 # 2, lo que sugiere que estos anticuerpos se unen a los epítomos que están cerca uno del otro, y posiblemente se superponen, aunque los dos epítomos no son necesariamente idénticos.

También se evaluó la capacidad de los anticuerpos TIM-3, por ejemplo, ABTIM3, para unirse a las PBMC activadas que expresan TIM-3. Las PBMC humanas completas de un donante se estimularon durante 10 días con CD3/CD28 unido a la placa (1 $\mu\text{g/mL}$ cada uno), en presencia de 10 ng/mL de IL-12 humana recombinante. Las células se agruparon para eliminar las células muertas y se reactivaron durante tres días con el mismo estímulo. Se compararon los anticuerpos que se unen a TIM-3, por ejemplo, ABTIM3 y anti-TIM-3 # 2, y se utilizaron anticuerpos anti-PD-1, anti-PD-L1 y anti-LAG-3, e IgG1 de ratón como anticuerpos de control. Las células se incubaron con los anticuerpos a diversas concentraciones de 0.001 a 100 $\mu\text{g/mL}$, y se analizó la unión del anticuerpo a las células mediante citometría de flujo. Las células se clasificaron para poblaciones positivas para CD4 o CD8, y la intensidad de fluorescencia media (MFI) para cada anticuerpo y la concentración se representó en un gráfico. Entonces se calcularon los valores de la constante de disociación (K_D). Los resultados de los ensayos se muestran en la Tabla 7 a continuación.

Tabla 7. Valores de K_D para la unión de anti-TIM-3 a las PBMC activadas

Anticuerpo	K_D de las PBMC clasificadas para CD4	K_D de las PBMC clasificadas para CD8
ABTIM3	0.29 nM	0.30 nM
Anti-TIM-3 #2	2.84 nM	3.14 nM
Control de Anti-PD-L1	0.20 nM	0.30 nM

Control de Anti-LAG-3		2.33 nM
Control de Anti-PD-1	22.8 nM	85.9 nM

Estos resultados demuestran que ABTIM3 fue capaz de unirse a TIM-3 expresada en PBMC activadas.

Ejemplo 2. Análisis del dominio de la unión del anticuerpo anti-TIM-3 a TIM-3.

TIM-3 tiene un dominio extracelular de IgV y un dominio de mucina. Las regiones de TIM-3 unidas por cada uno de los cinco anticuerpos se determinaron utilizando un constructo recombinante que reemplazó el dominio IgV de TIM-3 con el dominio IgV de PD-1, y este constructo se representa en la Figura 3A. La Figura 3B muestra que el anticuerpo monoclonal anti-TIM-3 (anti-TIM-3 # 3) y dos anticuerpos monoclonales de control anti-PD-L1 (anti-PD-L1 # 1 y # 2) se unen a la proteína quimérica de la Figura 3A, mientras que anti-TIM-3 # 2 y ABTIM3 no se unen sustancialmente. Este resultado sugiere que los anticuerpos monoclonales anti-TIM-3 anti-TIM-3 # 2 y ABTIM3 se unen al dominio IgV de TIM-3, mientras que los anti-TIM-3 # 3 se une al dominio de mucina de TIM-3. Los valores de la constante de disociación (K_D) se calcularon para cada anticuerpo probado para el constructo recombinante que se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Valores de K_D para la unión al constructo de mucina PD-L1 IgV/TIM-3

Anticuerpo	Antígeno	K_D
Anti-PD-L1 #1	Dominio PD-L1 IgV	0.52 nM
Anti-PD-L1 #2	Dominio PD-L1 IgV	0.38 nM
Anti-TIM-3 #3	dominio de mucina deTIM-3	2.71 nM
Anti-TIM-3 #2	TIM-3	Sin unión a la proteína quimérica
ABTIM3	TIM-3	Sin unión a la proteína quimérica

Ejemplo 3. La unión de TIM-3 a PtdSer está bloqueada por anticuerpos anti-TIM-3.

TIM-3 se une a PtdSer (fosfatidilserina), un lípido que normalmente está presente en la superficie de las células apoptóticas y no en las células normales. Las células WR19L (Fas) tratadas con anti-CD95 se cultivaron en condiciones que promueven la acumulación de PtdSer en la superficie celular (desplazamiento de PtdSer desde la membrana interna a la exposición externa tras la inducción de la apoptosis). Se añadió TIM-3-Ig (dominio extracelular huTIM-3 fusionado a una región Fc de Ig) a las células, y se ensayó la unión de TIM-3-Ig a las células en presencia de diversos anticuerpos. Como se muestra en la Figura 4, varios mAb anti-TIM-3, incluidos ABTIM3, anti-TIM-3 # 5 y anti-TIM-3 # 2, inhiben la unión de TIM-3 a PtdSer.

Ejemplo 4. La secreción de IFN-gamma de las células CD4+ es mejorada por los anticuerpos anti-TIM-3.

Se ensayó la capacidad de cuatro anticuerpos para potenciar la secreción de IFN-gamma y la proliferación de células CD4+ estimuladas con IL-12. Este ensayo utilizó la observación de que una dosis alta de IL-12 induce la expresión de TIM-3 y produce un fenotipo agotado en células T (véase Yang et al., J. Clin. Invest. 122: 4 página 1271 2012). La Figura 5A muestra cuatro paneles, cada uno de los cuales indica los resultados de un experimento en el que las células fueron expuestas a un anticuerpo seleccionado de ABTIM3, anti-TIM-3 # 2, mlgG1 y anticuerpo anti-PD-L1 (control de anti-PD-L1). Después de la reestimulación de PMA/ionomicina y la fijación y permeabilización de las células, los niveles de IFN-gamma resultantes se midieron mediante citometría de flujo (eje y) y la proliferación se midió mediante fluorescencia de CFSE (eje x). La Figura 5B cuantifica la expresión de IFN-gamma en células expuestas a estos cuatro anticuerpos. De izquierda a derecha, las barras en la Figura 5B corresponden a los anticuerpos ABTIM3, anti-TIM-3 # 2, control de anti-PD-L1 y mlgG1.

Ejemplo 5. El bloqueo de TIM-3 mejora la actividad funcional *in vitro*.

5.1 El bloqueo TIM-3 mejora la actividad citotóxica *in vitro* de las células NK purificadas

TIM-3 se expresa altamente de forma endógena en células NK (asesinas naturales); su expresión se induce aún más en las células NK activadas. TIM-3 puede actuar para restringir la función de las células NK, al igual que otros receptores inhibidores. Véase Ndhlovu et al., Blood 119: 3734, 2012, y Silva et al., Cancer Immunol Res 2: 410, 2014. Por consiguiente, se ensayó la capacidad de ABTIM3 y otros anticuerpos anti-TIM-3 para mejorar la actividad citotóxica de las células NK.

En este ensayo, las células NK se purificaron a partir de sangre completa mediante selección de perlas negativas y luego se incubaron con anticuerpo (10 µg/mL) a 37 °C. Después de 1 hora, se añadieron células objetivo K562. Después de una incubación de 4 horas a 37 °C, se midió el porcentaje de destrucción de células K562. El anticuerpo ABTIM3 produjo niveles elevados de destrucción de células K523 en relación con el anti-TIM-3 # 2 o el control de isotipos.

5.2 El bloqueo de TIM-3 aumenta la proliferación de cocultivos autólogos de T-DC

TIM-3 se puede expresar en células dendríticas (DC) y células T. Se aislaron células T inalteradas y células dendríticas de muestras de donantes. Se cocultivaron células T inalteradas y CD convencionales durante cuatro días en presencia de anti-CD3/CD28. Se añadió ABTIM3 en dosis variables, 0.01 µg/mL, 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 5 µg/mL y 25 µg/mL, al co-cultivo. La proliferación celular se detectó mediante un ensayo de proliferación con CFSE, que se basa en la dilución de la tinción con CFSE para detectar células en proliferación.

Como se muestra en la Figura 22, la presencia de ABTIM3 en cada dosis probada dio como resultado un aumento en la proliferación de células, como se representa con las células diluidas con CFSE, en comparación con ningún anticuerpo y el control de isotipo de ratón (IgG1).

Ejemplo 6. Caracterización de anticuerpo anti-TIM-3 humanizado.

6.1 Generación de anticuerpos anti-TIM-3 humanizados.

El anticuerpo anti-TIM-3 murino ABTIM3 se humanizó injertando las CDR, por ejemplo, proporcionadas en la Tabla 3, a la región constante de IgG4 humana, con una región bisagra estabilizada que contiene la mutación S228P. Se hicieron modificaciones adicionales a la CDR2 de la cadena pesada mediante la mutación del sitio de desamidación putativo de N en la posición 6 de la HCDR (Kabat), o la posición 4 de la HCDR2 (Chothia) a S o Q para eliminar el sitio de desamidación. Otras modificaciones incluyen el uso de marcos alternativos. Las únicas cadenas pesadas y ligeras se combinaron en varias combinaciones para generar una pequeña biblioteca de mA b humanizados únicos.

6.2 Ensayos de unión

La capacidad de unión de los mA b humanizados generados se probó mediante la unión competitiva con el anticuerpo anti-TIM-3 murino parental en un ensayo de clasificación activado por fluorescencia. Un gráfico representativo que representa los resultados del ensayo de competencia basado en FACS que compara la unión entre el anticuerpo anti-TIM-3 murino parental y los 4 anticuerpos anti-TIM-3 humanizados (ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum07 y ABTIM3 -hum08), y el control de hIgG4 se muestra en la Figura 7.

Los resultados de múltiples ensayos de unión de Biacore por resonancia de plasmón de superficie para un panel de anticuerpos anti-TIM-3 humanizados se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9. Valores K_D de Biacore para un panel de anticuerpos anti-TIM-3

Clon	K_D (nM) 4.7.14	K_D (nM) 4.29.14	K_D (nM) 5.1.14	K_D (nM) 5.30.14
ABTIM3-hum02		0.308	0.269	0.174
ABTIM3-hum03		0.351	0.16	0.314
ABTIM3-hum05		0.313	0.279	0.332
ABTIM3-hum06		0.498	0.214	0.364
ABTIM3-hum09				0.161
ABTIM3-hum10				0.107
ABTIM3-hum11				0.194
ABTIM3-hum12				0.355
ABTIM-hum01				0.23
ABTIM-hum04				0.172
ABTIM3-hum01	0.103		0.114	0.193
ABTIM3-hum07	0.135		0.199	0.196

ABTIM3-hum08	0.123		0.309	0.175
ABTIM3-hum04	0.216			
Se demostró que todos los mAb humanizados probados tienen relativamente la misma afinidad que cada uno de los otros y el anticuerpo anti-TIM-3 murino parental, dentro de K_D de 0.1-0.5 nM.				

6.3 Unión a células que expresan TIM-3

Los anticuerpos anti-TIM-3 humanizados se analizaron para determinar la unión a células que expresan TIM-3 utilizando la clasificación de células activadas por fluorescencia y los ensayos de Biacore, descritos en el Ejemplo 1.

- 5 En la Figura 8A, la unión de diversos anticuerpos anti-TIM-3 humanizados a las células transfectadas con TIM-3 humana se midió usando citometría de flujo. ABTIM3 se utilizó como control positivo. Los controles negativos incluyen hlgG4, Ab-FITC antihumano de cabra y secundario anti-ratón de cabra. Los resultados del ensayo de competición por citometría de flujo se utilizaron para determinar la constante de disociación (K_D) para las células que expresan TIM-3 humana, como se muestra en la Tabla 10 a continuación.

10 Tabla 10. Valores de K_D para la unión a células que expresan huTIM-3.

Anticuerpo	K_D (nM)
ABTIM3-hum03	0.887
ABTIM3-hum11	0.906
ABTIM3-hum21	0.917
ABTIM3	1.04

También se realizó un ensayo de unión competitiva para evaluar la unión de los anticuerpos anti-TIM-3 humanizados, ABTIM3-hum03 y ABTIM3-hum11, a células que expresan TIM-3 humana, mientras está en presencia del anticuerpo murino parental, ABTIM3. Como se muestra en la Figura 8B, los anticuerpos anti-TIM-3 humanizados compitieron con ABTIM3.

- 15 Los valores de K_D para dos anticuerpos anti-TIM-3 humanizados para proteínas de fusión TIM-3-Ig recombinantes se analizaron por resonancia de plasmón de superficie en un ensayo de Biacore, como se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11. Valores de K_D de Biacore para TIM-3-Ig

		cynoTIM-3/Fc	huTIM-3/his	mTIM-3/his	ratTIM-3/Fc
ABTIM3-hum03	K_D (M)	1.04E-09	1.24E-10		
	K_D (M)	3.89E-09	1.84E-10		5.10E-08
	K_D (M)	3.08E-09	7.58E-11		
	Mean K_D (M)	2.67E-09	1.28E-10		
ABTIM3-hum11	K_D (M)	1.24E-09	1.55E-10		
	K_D (M)	3.14E-09	2.26E-10		
	K_D (M)	5.04E-09	1.09E-10		2.97E-07
	K_D (M) promedio	3.14E-09	1.63E-10		

- 20 Estos resultados muestran que los anticuerpos TIM-3 humanizados tienen una afinidad de unión similar con proteínas humanas y de cynomolgus. Los anticuerpos TIM-3 humanizados mostraron una afinidad de unión muy débil a la proteína TIM-3/Fc de rata, en el orden de 1/1000 en comparación con la afinidad de unión con huTIM-3/Fc.

Ejemplo 7: Estructura cristalina de rayos X del complejo Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 humano

Se determinó la estructura cristalina de una TIM-3 humana (dominio IgV, SEQ ID NO: 220, Tabla 12) unida al fragmento Fab de un anticuerpo anti-TIM-3 humanizado ABTIM3-hum21 (SEQ ID NO: 221 y 222), Tabla 12). Como se detalla a continuación, TIM-3 se coexpresó con Fab MGB220 en células de mamíferos para producir complejo purificado. La cristalografía de proteínas se empleó para generar datos de resolución atómica para TIM-3 unido a Fab ABTIM3-hum21 para definir el epítipo. ABTIM3-hum21, un anticuerpo humanizado de un anticuerpo murino parental, comprende un marco IgG1 y la cadena pesada variable de la SEQ ID NO: 84, y la cadena ligera variable de la SEQ ID NO: 88. ABTIM3-hum21 difiere en un solo aminoácido en la CDR2 de la cadena pesada de otros anticuerpos anti-TIM humanizados descritos en el presente documento y este aminoácido diferente (Gln55) está muy lejos (> 6Å) del epítipo y, por lo tanto, no cambiaría la unión del antígeno, lo que indica que los resultados de la estructura cristalina son aplicables a los otros anticuerpos humanizados descritos en este documento.

7.1 Producción de proteínas.

Las secuencias de TIM-3 y de Fab ABTIM3-hum21 producidas por cristalografía se muestran en la Tabla 12. El constructo de TIM-3 comprende los residuos 22 a 130 (subrayados) de TIM-3 humana (identificador de UniProt Q8TDQ0, SEQ ID NO: 129), junto con los residuos del extremo terminal N y el extremo terminal C del vector de expresión recombinante (que se muestra en letras minúsculas, SEQ ID NO: 130). La secuencia señal del extremo terminal N de la cadena ligera kappa de IgG de ratón se usó para la expresión secretada de TIM-3 y se escindió durante la expresión, dejando el extremo terminal N de TIM-3 intacto. El extremo terminal C de TIM-3 se fusionó con una etiqueta de 6xHis (SEQ ID NO: 133) para la purificación. Para Fab ABTIM3-hum21, se muestran las secuencias de las cadenas pesada (SEQ ID NO: 131) y ligera (SEQ ID NO: 132).

Tabla 12: Secuencias de aminoácidos utilizadas para la determinación de la estructura cristalina

Constructo	Secuencia de aminoácidos	SEQ ID NO
TIM-3 humana (Q8TDQ0)	<u>MF</u> <u>SHLP</u> <u>FD</u> <u>CV</u> <u>LLLLLLLL</u> <u>LR</u> <u>SS</u> <u>VE</u> <u>YR</u> <u>AE</u> <u>VG</u> <u>QNA</u> <u>YLP</u> <u>CF</u> <u>Y</u> <u>TP</u> <u>AA</u> <u>PG</u> <u>N</u> <u>L</u> <u>VP</u> <u>VC</u> <u>WG</u> <u>KG</u> <u>AC</u> <u>PV</u> <u>FE</u> <u>CG</u> <u>NV</u> <u>VL</u> <u>RT</u> <u>DER</u> <u>D</u> <u>V</u> <u>NY</u> <u>W</u> <u>TS</u> <u>RY</u> <u>WL</u> <u>NG</u> <u>DF</u> <u>RK</u> <u>GD</u> <u>VS</u> <u>LT</u> <u>IE</u> <u>NV</u> <u>TL</u> <u>AD</u> <u>SG</u> <u>IY</u> <u>CC</u> <u>RI</u> <u>Q</u> <u>IP</u> <u>GI</u> <u>M</u> <u>N</u> <u>DE</u> <u>KF</u> <u>N</u> <u>L</u> <u>K</u> <u>L</u> <u>V</u> <u>IK</u> <u>PA</u> <u>K</u> <u>VT</u> <u>P</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>T</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>R</u> <u>D</u> <u>F</u> <u>T</u> <u>A</u> <u>A</u> <u>F</u> <u>P</u> <u>R</u> <u>M</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>T</u> <u>R</u> <u>G</u> <u>H</u> <u>G</u> <u>P</u> <u>A</u> <u>E</u> <u>T</u> <u>Q</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>P</u> <u>D</u> <u>I</u> <u>N</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>Q</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>A</u> <u>N</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>D</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>L</u> <u>A</u> <u>N</u> <u>D</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>D</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>A</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>R</u> <u>I</u> <u>G</u> <u>I</u> <u>Y</u> <u>I</u> <u>G</u> <u>A</u> <u>G</u> <u>I</u> <u>C</u> <u>A</u> <u>G</u> <u>L</u> <u>A</u> <u>L</u> <u>I</u> <u>F</u> <u>G</u> <u>A</u> <u>L</u> <u>I</u> <u>F</u> <u>K</u> <u>W</u> <u>Y</u> <u>S</u> <u>H</u> <u>S</u> <u>K</u> <u>E</u> <u>K</u> <u>I</u> <u>Q</u> <u>N</u> <u>L</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>A</u> <u>N</u> <u>L</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>L</u> <u>A</u> <u>N</u> <u>A</u> <u>V</u> <u>A</u> <u>E</u> <u>G</u> <u>I</u> <u>R</u> <u>S</u> <u>E</u> <u>E</u> <u>N</u> <u>I</u> <u>Y</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>E</u> <u>N</u> <u>V</u> <u>Y</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>E</u> <u>E</u> <u>P</u> <u>N</u> <u>E</u> <u>Y</u> <u>Y</u> <u>C</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>Q</u> <u>S</u> <u>Q</u> <u>P</u> <u>L</u> <u>G</u> <u>C</u> <u>R</u> <u>F</u> <u>A</u> <u>M</u> <u>P</u>	129
Constructo de expresión de TIM-3 humana	mctdtlllwvllwvpgstgSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNGDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFN LKLVIKhhhhhh	130
Cadena pesada de Fab ABTIM3-hum21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHWV RQAPGGGLEWIGDIYPGQGDTSYNQKFKGRATMTADKS TSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFPM DYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH	131
Cadena ligera de Fab ABTIM3-um21	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQW YQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFTLTI SSLQAEDVAVYYCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPRKAVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	132

Se coexpresó TIM-3 con Fab ABTIM3-hum21 en células Expi293® para producir un complejo para cristalografía. En forma detallada, se mezclaron 0.3 mg de plásmido que codifica TIM-3 con 0.15 mg de plásmido que codifica la cadena pesada de Fab ABTIM3-hum21 y 0.15 mg de plásmido que codifica la cadena ligera de Fab ABTIM3-hum21, diluidos en 30 mL de medio Opti-MEM® I (Life Technologies) e incubado con 1.5 mg de polietilenimina (Polysciences) en 30 mL del mismo medio durante 30 minutos. Luego, la mezcla se añadió a 0.6 L de células Expi293® que crecían en

suspensión en medio de expresión Expi293® (Life Technologies) a razón de 2 millones de células/mL a 37 °C con 8% de CO₂ para transfección. Después de 5 días, el medio que contenía el complejo Fab TIM-3/ABTIM3-HUM21 se recolectó por centrifugación. Se añadieron 5 mL de resina Ni-NTA en el medio y se mantuvo la agitación a 4 °C durante la noche. Al día siguiente, las perlas se empaquetaron en una columna de gravedad y se lavaron con Hepes 25 mM, pH 7.4, NaCl 150 mM (HBS) complementado con 20 mM de imidazol. El complejo se eluyó con 3 volúmenes de columna (CV) de HBS con 500 mM de imidazol, y luego se dializó en HBS a 4 °C durante la noche. Al día siguiente, el complejo se incubó con 1/10 (p/p) de PNGaseF (purificado en el laboratorio) a 37 °C durante la noche para eliminar la glicosilación ligada a N. Después de la desglucosilación, la mezcla se unió de nuevo a 5 mL de resina Ni-NTA, se lavó con HBS para eliminar PNGaseF y se eluyó con HBS más 500 mM de imidazol. El eluato se concentró y se cargó en una columna de exclusión por tamaño HiLoad 16/600 Superdex 75 PG (GE Healthcare) equilibrada en HBS. Las fracciones de los pico que contenían el complejo Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 purificado se analizaron mediante SDS-PAGE, se agruparon y se concentraron para cristalización.

7.2 Cristalización y determinación de la estructura

El complejo TIM-3/ABTIM3-hum21 Fab se concentró hasta 12.5 mg/mL, se centrifugó a 20,000 g durante 10 minutos y se cribó por cristalización. Los cristales para la recolección de datos se hicieron crecer mediante difusión de vapor de gota colgante a 20°C. En forma detallada, se mezclaron 0.1 µL del complejo Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 con 0.1 µL de solución de reserva que contenía fosfato de potasio monobásico 0.04 M, PEG 8000 al 16% (p/v) y glicerol al 20% (v/v). La gota se equilibró luego contra 45 µL de la misma solución de reserva. Antes de la recolección de datos, los cristales se enfriaron instantáneamente en nitrógeno líquido.

Los datos de difracción se recopilaron en la línea de luz 17-ID en el Advanced Photon Source (Argonne National Laboratory, EE. UU.) y se procesaron usando Autoproc (versión 1.1.5, Global Phasing, LTD). Los datos de Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 se procesaron a 2.0 Å en el grupo espacial P2₁ con dimensiones de celda a = 84.3 Å, b = 93.0 Å, c = 85.3 Å, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 114^\circ$ y $\gamma = 90^\circ$. La estructura del complejo se resolvió mediante reemplazo molecular utilizando Phaser (versión 2.5.5, McCoy et al., (2007) J. Appl. Cryst. 40: 658-674) con estructuras TIM-3 de ratón (PDB: ID 3KAA) y un Fab (estructura interna) como modelos de búsqueda. El modelo final se construyó en COOT (versión 0.6 anterior, Emsley & Cowtan (2004) Acta Cryst. D60: 2126-2132) y se refinó utilizando Phenix (versión 1.9, Afonine et al., (2012) Acta Cryst. D68: 352- 367). Los valores de R_{trabajo} y R_{libre} fueron de 17.5% y 22.1%, respectivamente; y los valores de desviación de la media cuadrática (r.m.s) de las longitudes de enlace y los ángulos de enlace son 0.007 Å y 1.1°, respectivamente.

El epítipo se definió como los residuos de TIM-3 que contenían átomos dentro de 5 Å para cualquier átomo en Fab ABTIM3-hum21, identificados por CONTACT en el paquete de programas CCP4 (versión 6.2.0, Winn et al., (2011) Acta. Cryst. D67: 235-242) y se enumeran en la Tabla 13. Hay 2 copias de los complejos Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 en la unidad asimétrica (la unidad única más pequeña en el cristal), solo aquellos residuos en contacto con el anticuerpo que son comunes en ambas copias se enumeran como residuos de epítipo.

7.3 Epítipo de ABTIM3-hum21 en TIM-3

La estructura cristalina del complejo Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 se utilizó para identificar el epítipo de ABTIM3-hum21 en TIM-3. La superficie de interacción en TIM-3 por ABTIM3-hum21 se formó por varias secuencias continuas y discontinuas (es decir, no contiguas): a saber, los residuos Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 y Val128 como se detalla en la Tabla 13. Estos residuos forman el ejemplo de epítipo conformacional tridimensional que es reconocido por ABTIM3-21 (Figura 9).

Tabla 13: Interacciones entre TIM-3 humana y ABTIM3-hum21. Los residuos de TIM-3 están numerados como en la entrada UniProt Q8TDQ0 (SEQ ID NO: 219). Los residuos de anticuerpos se numeran según su secuencia de aminoácidos lineal (SEQ ID NO: 221 y 222) y las cadenas correspondientes se marcan ("H" para la cadena pesada, "L" para la cadena ligera). Los residuos de TIM-3 que se muestran en el presente documento tienen al menos un átomo dentro de 5 Å para un átomo en ABTIM3-hum21, para tener en cuenta las posibles interacciones mediadas por el agua.

TIM-3		ABTIM3-hum21		
Aminoácido	Número	Aminoácido	Número	Cadena
Val	24	Ala	102	H
		Asp	98	L
Glu	25	Tyr	31	L
		Arg	96	L

ES 2 972 425 T3

Tyr	26	Tyr	31	L
Phe	39	Ser	31	H
		Tyr	52	H
Tyr	40	Ser	31	H
		Thr	28	H
Thr	41	Thr	28	H
Gly	56	Thr	34	L
Ala	57	Phe	103	H
		Thr	34	L
		Asn	57	L
		Tyr	53	L
		Ala	54	L
Cys	58	Tyr	53	L
		Asn	57	L
Pro	59	Asn	57	L
		Tyr	53	L
Val	60	Asn	57	L
		Tyr	53	L
		Val	58	L
		Ser	60	L
		Glu	59	L
Phe	61	Ser	60	L
Ser	105	Tyr	32	L
Gly	106	Tyr	31	L
		Tyr	32	L
He	107	Phe	103	H
		Thr	34	L
		Tyr	31	L
		Leu	36	L
Asn	119	Ser	60	L
Asp	120	Tyr	32	H
Glu	121	Tyr	32	H
		Thr	28	H

Lys	122	Tyr	32	H
		Gly	100	H
		Tyr	53	L
		Glu	59	L
Phe	123	Gly	100	H
		Gly	101	H
		Tyr	32	H
Asn	124	Phe	103	H
		Ala	102	H
		Pro	104	H
		Tyr	53	L
Leu	125	Ala	102	H
Lys	126	Ala	102	H
		Tyr	31	L
		Leu	36	L
		Ser	95	L
		Lys	97	L
Leu	127	Tyr	31	L
Val	128	Tyr	31	L
		Tyr	32	L

7.4 ABTIM3-hum21 frente a ligandos de TIM-3

La identificación del epítipo de TIM-3 reconocido por el anticuerpo anti-TIM-3 indica que la unión de algunos de los ligandos de TIM-3 puede romperse por la unión de anticuerpos. Los ligandos conocidos de TIM-3 incluyen CEACAM-1, fosfatidilserina (PtdSer), HMGB1 y Galectina-9 (Gal-9).

Con respecto a CEACAM-1, un estudio reciente ha demostrado que CEACAM-1 es un ligando para TIM-3 requerido por su capacidad para mediar la inhibición de células T, y esta interacción tiene un papel crucial en la regulación de la autoinmunidad y la inmunidad antitumoral (Huang et al., (2014) Nature). El mismo estudio también identificó, tanto bioquímica como estructuralmente, los residuos de aminoácidos cruciales de TIM-3 que median su unión a CEACAM-1 (Figura 10A). El epítipo ABTIM3-hum21 en TIM-3 se superpone con estos residuos de unión a CEACAM-1 (Figura 10A), incluidos C58, N119 y K122. Por ejemplo, K122 forma el enlace de hidrógeno N42 de CEACAM-1, pero está completamente bloqueado por ABTIM3-hum21 (Figura 10B). La superposición de las estructuras cristalinas obtenidas a partir del Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 y los complejos TIM-3/CEACAM-1 (PDB ID: 4QYC) da como resultado un choque significativo entre ABTIM3-hum21 y CEACAM-1 (Figura 10C). En conjunto, estos datos sugieren que ABTIM3-hum21 rompe la unión a CEACAM-1.

Con respecto a PtdSer, el bucle FG y el bucle CC' de TIM-3 forman un bolsillo (a menudo denominado el sitio de unión al ligando dependiente de ión metálico (MILIBS)) que mediante la estructura cristalina ha demostrado que se une a Ca^{2+} y PtdSer simultáneamente (DeKruyff, et al., (2010) J Immunol. 184 (4): 1918-1930). Se cree que esta unión ayuda a que las células que expresan TIM-3 se adhieran y penetren en la membrana de las células apoptóticas (que muestra PtdSer) para engullirlas. La estructura cristalina del Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 indica que ABTIM3-hum21 se une a los bucles de unión de PtdSer del dominio IgV de TIM-3 humano; y el ángulo de ataque del anticuerpo sugiere que evitará la penetración de la membrana de TIM-3 mediada por PtdSer (Figura 11).

Con respecto a HMGB1, se ha informado que interactúa con TIM-3 para ayudar a las células dendríticas asociadas a tumores a suprimir la respuesta inmune innata mediada por ácidos nucleicos (Chiba et al., (2012) Nat. Immunol. 13 (9): 832-842). El residuo de aminoácido en la posición 62 de TIM-3 (Q en TIM-3 de ratón, E en TIM-3 humana) ha demostrado ser importante para la unión de HMGB1 de ratón a TIM-3 de ratón. E62 no está presente en el epítipo ABTIM3-hum21, aunque está muy cerca de los dos residuos del epítipo V60 y F61, por lo que existe la posibilidad de que ABTIM3-hum21 pueda bloquear la unión de HMGB1 dependiendo del ángulo de ataque de HMGB1 a TIM-3.

Con respecto a Gal-9, se ha demostrado que se une al TIM-3 de ratón para regular negativamente la respuesta inmune de Th1 (Zhu et al., (2005) Nat. Immunol. 6 (12): 1245-1252). Sin embargo, también se ha informado que TIM-3 humana en las células T no actúa como un receptor para Gal-9 (Leitner et al., (2013) PLoS Pathog. 9 (3): e1003253). A partir de la estructura cristalina del Fab TIM-3/ABTIM3-hum21 humano, la mitad del sitio de unión a Gal-9 propuesto en TIM-3 de ratón no se conserva en TIM-3 humana (N74 y N90 en TIM-3 de ratón se convierten en D74 y R89 en TIM-3 humana), es decir este sitio medio en TIM-3 humana no podrá unirse a Gal-9. El sitio medio restante (N33 y N99 en TIM-3 humana) se conserva, pero se encuentra lejos del epítipo ABTIM3-hum21 en TIM-3 (Figura 9A). Por lo tanto, incluso si Gal-9 es un ligando de TIM-3 humana, ABTIM3-hum21 no interrumpirá la unión de Gal-9 a TIM-3 humana.

7.5 Configuración experimental del intercambio de hidrógeno-deuterio

Los experimentos HDx/MS se realizaron utilizando métodos similares a aquellos descritos en la literatura (Chalmers et al., (2006) Anal. Chem. 78 (4): 1005-1014). Los experimentos se realizaron en una plataforma HDx/MS de Waters, que incluye un muestreador automático LEAP, una UPLC nanoACQUITY y un espectrómetro de masas Synapt G2. El regulador de deuterio usado para marcar el esqueleto de la proteína de TIM-3 humana (aa22-135; SEQ ID NO: 139) fue HEPES 25 mM, NaCl 150 mM, CaCl₂ 5 mM, pH 7.4 con deuterio; el porcentaje total de deuterio en la solución fue del 94.2%. Para TIM-3 humana (aa22-135) los experimentos de marcación con deuterio en ausencia de anticuerpo, se diluyeron hasta 300 pmol de TIM-3 humana (aa22-135), volumen de 7.7 µL usando 100 µL de tampón de deuterio en un tubo refrigerado y se incubó durante 15 minutos en un rotador a 4 °C. La reacción de marcación se detuvo luego con 100 µL de regulador de inactivación frío a 2 °C durante cinco minutos, seguido de una inyección en el sistema LC-MS para la digestión con pepsina y el análisis de péptidos automatizado.

Para TIM-3 (aa22-135) humana los experimentos de marcación con deuterio en presencia de anticuerpos, 400 pmol de ABTIM3-hum03 o ABTIM3-hum11 se inmovilizaron primero en perlas Thermo Protein G Plus y se entrecruzaron utilizando suberato de disuccinimidilo (DSS). Para realizar los experimentos de marcación, las perlas de anticuerpo (que contienen 400 pmol de anticuerpo) se incubaron con 300 pmol de TIM-3 humana (aa22-135) durante 25 minutos a 4 °C. Después de 25 minutos, las perlas se lavaron con 200 µL de regulador HEPES. Luego se agregaron 200 µL de regulador de deuterio frío (87.5% de deuterio) y el complejo se incubó durante 15 minutos a 4 °C. Después de 15 minutos, el regulador de deuterio se centrifugó y la reacción de marcación se detuvo con 200 µL de regulador de inactivación frío sobre hielo durante 4 minutos. Después de centrifugar la muestra durante 30 segundos en una centrífuga, la solución inactivada se inyectó en el sistema LC-MS para la digestión con pepsina y el análisis de péptidos automatizado.

Todos los experimentos de intercambio de deuterio se inactivaron utilizando TCEP 1 M y urea 6 M (pH 2.6). Después de inactivar, el antígeno intercambiado se sometió a digestión con pepsina en línea utilizando una columna de pepsina inmovilizada en poroszyme (2.1 x 30 mm) a 12 °C, seguido por atrapamiento en una columna de atrapamiento Waters Vanguard HSS T3. Los péptidos se eluyeron de la columna de captura y se separaron en una columna Waters BEH C18 de 1 x 100 mm (mantenida a 1 °C) a una velocidad de flujo de 40 µL/min utilizando un gradiente binario de 8.4 minutos de 2 a 35% de B (la fase móvil A tenía un 99.9% de agua y un 0.1% de ácido fórmico; la fase móvil B era un 99.9% de acetonitrilo y 0.1% de ácido fórmico).

7.6 Resultados de intercambio de hidrógeno-deuterio

Para TIM-3 humana, el 93% de la secuencia se monitorizó por intercambio de deuterio como se muestra en la Figura 18. En esta figura, cada barra representa un péptido que se monitorea en todos los experimentos de intercambio de deuterio. Para experimentos diferenciales entre los estados unido y no unido del anticuerpo, es informativa para examinar la diferencia en la captación de deuterio entre los dos estados. En la Figura 19, un valor negativo indica que el complejo TIM-3-anticuerpo sufre menos captación de deuterio en relación con TIM-3 sola. Una disminución en la captación de deuterio puede deberse a la protección de la región contra el deuterio intercambiable o la estabilización de la red de enlaces de hidrógeno. En contraste, un valor positivo indica que el complejo sufre una mayor captación de deuterio en comparación con el TIM-3 sola. Un aumento en la captación de deuterio puede ser debido a la desestabilización de las redes de enlace de hidrógeno (es decir, el despliegue localizado de la proteína).

ABTIM3-hum03 comparte CDR idénticas con ABTIM3-hum11 excepto que ABTIM3-hum03 tiene una glutamina en la posición 55 en HCDR2 mientras que ABTIM3-hum11 tiene una asparagina en la posición 55 en HCDR2. ABTIM3-hum03 comparte las mismas regiones CDR con ABTIM3-hum21. Se espera que estos anticuerpos tengan el mismo epítipo en TIM-3. En la Figura 19 se observa que ABTIM3-hum03 y ABTIM3-hum11 presentan el mismo perfil de protección que es consistente con los dos anticuerpos que comparten el mismo epítipo. Un examen más detallado de la Figura 19 revela que cuando TIM-3 se compleja con cualquiera de los dos anticuerpos, muchas regiones de TIM-3 tienen una protección significativa, definida típicamente como protección menor o igual a -0.5 Da (Houde et al., (2010)

J. Pharma. Sci. 100 (6): 2071-2086). La observación de una amplia protección sugiere que la unión de cualquiera de los dos anticuerpos al antígeno TIM-3 causa una estabilización de base amplia de las redes de enlaces de hidrógeno en TIM-3. Esta amplia protección es adicional a la protección que resulta de la protección del disolvente del epítipo en la interfaz anticuerpo-antígeno. Dada la cantidad significativa de protección amplia, es útil clasificar las regiones más protegidas de TIM-3 en la unión del anticuerpo para delimitar las regiones que probablemente estén involucradas en el epítipo. Las regiones TIM-3 que están más protegidas con ABTIM3-hum03 o ABTIM3-hum 11 incluyen las regiones 23-25 (EVE), 41-61 (TPAAPGNLVPVCWKGACPVF, SEQ ID NO: 140), 73-77 (RDVNY, SEQ ID NO: 141) y 121-127 (EKFNLLK, SEQ ID NO: 142). La comparación de estas regiones protegidas con los datos de la estructura cristalina por rayos X se resumen en la Tabla 13 que muestra una concordancia consistente que indica que el epítipo determinado por la estructura cristalina de rayos X está presente en la solución.

Ejemplo 8: expresión de TIM-3 en cáncer

TIM-3 se expresa en varios cánceres. En este ejemplo, se utilizaron varios métodos de análisis diferentes para identificar los cánceres con la expresión de TIM-3 en los que se podría lograr un beneficio terapéutico mediante un anticuerpo anti-TIM-3.

8.1 Tinción inmunohistoquímica de tumores.

Se utilizó ABTIM-3 para teñir varios tejidos tumorales. Se identificó la expresión en el tumor de TIM-3 en el carcinoma de células escamosas esofágico, el carcinoma de células renales primario y metastásico, cáncer colorrectal y células madre leucémicas en AML.

8.2 Análisis de expresiones en bases de datos TCGA e ICGC.

Se comparó la expresión total de TIM-3 en la base de datos The Cancer Genome Atlas (TCGA) y la base de datos International Cancer Genome Consortium (ICGC). Se identificaron los siguientes cánceres entre los más altos expresores de TIM-3: linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), carcinoma de células claras renales de riñón (KIRC), glioblastoma multiforme (GBM), carcinoma nasofaríngeo (NPC), adenocarcinoma de pulmón (LUAD), carcinoma de células papilares renales de riñón (KIRP), mesotelioma (MESO), leucemia mieloide aguda (AML) y, en cáncer de mama, subtipo inmunomodulador (IM) triple negativo (TN) (Figura 12).

A continuación, se identificaron los cánceres que se caracterizaron por una alta expresión de TIM-3 junto con una alta expresión de otros marcadores de células inmunes. Los otros marcadores de células inmunes incluyen: marcador de células T CD3e, marcador de la célula reguladora T, FoxP3, marcador de células asesinas naturales NKp30, marcador de macrófagos CD68 y marcador de células dendríticas CD11c. Como se muestra en la Figura 12, se identificaron las indicaciones de cáncer con alta expresión de TIM-3 y el otro marcador de células inmunes. La expresión "alta" se cuantificó mediante el tercer cuartil (o superior al 25%) de los expresores en más de 34,000 casos. Para TIM-3 y CD3e, las indicaciones principales fueron linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), carcinoma nasofaríngeo (NPC) y carcinoma de células claras renales de riñón (KIRC). Para TIM-3 y FoxP3, las principales indicaciones fueron linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), carcinoma nasofaríngeo (NPC) y adenocarcinoma de pulmón (LUAD). Para TIM-3 y NKp30, las indicaciones principales fueron linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), carcinoma nasofaríngeo (NPC) y leucemia mieloide aguda (AML). Para TIM-3 y CD68, las indicaciones principales fueron linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), carcinoma de células claras renales de riñón (KIRC) y carcinoma de células papilares renales de riñón (KIRP). Para TIM-3 y CD11c, las indicaciones principales fueron linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), mesotelioma (MESO) (aunque solo se evaluó una muestra pequeña) y carcinoma de células papilares renales de riñón (KIRP).

También se realizó una comparación de la correlación entre TIM-3 o PD-1 con marcadores asociados a células T o macrófagos en la base de datos TCGA. El análisis reveló la correlación entre la expresión de TIM-3 y ambos marcadores asociados con células T (por ejemplo, ZAP70, CD3D, CD3G, CD8B, GZMH, GZMK e ITK) y marcadores asociados con macrófagos (por ejemplo, LILRB4, MRC1, MSR1, SIGLEC1, TREM2, CD163, ITGAX e ITGAM), sin embargo, la expresión de TIM-3 está más asociada con marcadores de macrófagos, especialmente receptores inhibitorios en macrófagos (por ejemplo, LILRB4). La expresión de una firma de macrófagos, por ejemplo, marcadores asociados a macrófagos (por ejemplo, LILRB4, MRC1, MSR1, SIGLEC1, TREM2, CD163, ITGAX e ITGAM) se determinó para varios cánceres y se organizó para los expresores más altos de la firma de macrófagos en la Figura 13. Las indicaciones de cáncer con alta expresión de la firma de macrófagos son también las mismas indicaciones con alta expresión de TIM-3.

Ejemplo 9: Selección de pacientes según el estado de PDL1/CD8/IFN- γ

Para cada uno de los diversos tipos de cáncer, se analizaron muestras de múltiples pacientes para determinar el estado de PDL1/CD8/IFN- γ . Cada muestra se clasificó como: triple negativa para PDL1/CD8/IFN- γ , simple o doble positiva para estos marcadores, o triple positiva para estos marcadores. La Figura 14 muestra que en este experimento, dentro de una población de pacientes, los siguientes tipos de cáncer son con frecuencia triple positivos para PDL1/CD8/IFN- γ : cáncer de pulmón (escamoso), cáncer de pulmón (adenocarcinoma), cáncer de cabeza y cuello, cáncer cervical (escamoso), cáncer de estómago, cáncer de tiroides, melanoma y cáncer nasofaríngeo. Los pacientes que tienen estos tipos de cáncer son buenos candidatos para la terapia con anticuerpos anti PD-1 y terapias

combinadas como se describe en este documento. La probabilidad de un tratamiento exitoso puede mejorarse aún más determinando qué pacientes son triple positivos para PDL1/CD8/IFN- γ , y tratando a los pacientes triple positivos con anticuerpos anti-TIM-3, solos o en combinación con uno o más inmunomoduladores (por ejemplo, un inhibidor de PD-1 o un inhibidor de PD-L1), y/o terapias de combinación, como se describe en el presente documento.

La Figura 15 muestra que dentro de una población de pacientes, los siguientes tipos de cáncer rara vez son triple positivos para PDL1/CD8/IFN- γ : cáncer de mama ER+ y cáncer pancreático. En particular, incluso en los cánceres que generalmente no son positivos para PDL1/CD8/IFN- γ , se puede aumentar la probabilidad de un tratamiento exitoso al determinar qué pacientes son triple positivos para PDL1/CD8/IFN- γ y tratar los pacientes triple positivos con anticuerpos anti-TIM-3, solos o en combinación con uno o más inmunomoduladores (por ejemplo, un inhibidor de PD-1 o un inhibidor de PD-L1), y/o terapias de combinación, como se describe en este documento.

La Figura 16 muestra la proporción de pacientes con cáncer de mama que son triple positivos para PDL1/CD8/IFN- γ . Teniendo en cuenta el cáncer de mama en general, la proporción de triple positivos es algo baja. Sin embargo, cuando se enfoca solo en cáncer de mama IM-TN, se puede observar que un porcentaje mucho mayor de pacientes es triple positivo para PDL1/CD8/IFN- γ . El cáncer de mama IM-TN es particularmente difícil de tratar con terapias convencionales. El descubrimiento de que el cáncer de mama IM-TN es a menudo triple positivo para PDL1/CD8/IFN- γ abre nuevas vías de tratamiento para este cáncer con anticuerpos anti-TIM-3, solos o en combinación con uno o más inmunomoduladores (por ejemplo, un inhibidor de PD-1 o un inhibidor de PD-L1) y/o terapias de combinación, como se describe en este documento.

La Figura 17 muestra la proporción de pacientes con cáncer de colon que son triple positivos para PDL1/CD8/IFN- γ . Teniendo en cuenta el cáncer de colon en general, la proporción de triple positivo es algo baja. Sin embargo, cuando uno se enfoca solo en el cáncer de mama alto para MSI (alta inestabilidad de microsatélite), se puede observar que un porcentaje mucho mayor de pacientes es triple positivo para PDL1/CD8/IFN- γ . Los niveles de MSI pueden analizarse utilizando, por ejemplo, métodos basados en PCR disponibles comercialmente.

Las muestras de cáncer gástrico se analizaron para determinar los niveles de PDL1/CD8/IFN- γ (datos no mostrados). Se encontró que en los cánceres gástricos con MSI alto o EBV+, aproximadamente el 49% eran positivos para PDL1, y una alta proporción de células positivas para PDL1 eran triple positivas para PDL1/CD8/IFN- γ . También se encontró que una proporción de células positivas para PDL1 y células positivas para PDL1/CD8/IFN- γ también eran positivas para PIK3CA. Este descubrimiento sugiere que estos cánceres se pueden tratar con un anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con uno o más inmunomoduladores (por ejemplo, un inhibidor de PD-1 o un inhibidor de PD-L1), opcionalmente en combinación con un agente terapéutico PIK3.

Se probaron muestras de CRC alto en MSI para una combinación de marcadores (datos no mostrados). Se encontró que en las muestras de CRC altas en MSI, una alta proporción de las muestras de PDL1/CD8/IFN- γ también son positivas para LAG-3, PD-1 (también llamada PDCD1), RNF43 y BRAF. Este hallazgo sugiere que estos cánceres pueden tratarse con un anticuerpo anti-TIM-3, opcionalmente en combinación con un agente terapéutico que se dirige a uno o más de LAG-3, PDCD1, RNF43 y BRAF.

Se examinaron los cánceres de pulmón de células escamosas para una combinación de marcadores (datos no mostrados). Se encontró que en las muestras de cáncer de pulmón de células escamosas, una alta proporción de las muestras de PDL1/CD8/IFN- γ también son positivas para LAG-3. Este descubrimiento sugiere que estos cánceres pueden tratarse con un anticuerpo anti-TIM-3, opcionalmente en combinación con un agente terapéutico que se dirige a LAG-3, por ejemplo, un anticuerpo LAG-3.

Los cánceres papilares de la tiroides se analizaron para una combinación de marcadores que incluyen la mutación BRAF V600E (datos no mostrados). Se encontró que una alta proporción de muestras de cáncer de tiroides que son positivas para PDL1 también son positivas para BRAF V600E. Este hallazgo sugiere que estos cánceres pueden tratarse con un anticuerpo anti-TIM-3, solo o en combinación con uno o más inmunomoduladores (por ejemplo, un inhibidor de PD-1 o un inhibidor de PD-L1), opcionalmente en combinación con un agente terapéutico que dirige BRAF.

Ejemplo 10: Selección de pacientes basada en el estado de PD-L1

Para permitir un amplio examen de las indicaciones de cáncer para las terapias basadas en PD-1/PD-L1, se evaluó la expresión de PD-L1 tanto a nivel de proteína como de ARNm en cánceres humanos, incluidos los tumores pulmonares y hepáticos.

La expresión de la proteína PD-L1 se evaluó en un conjunto de adenocarcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) embebido en parafina y fijado en formalina (ACA) y carcinoma de células escamosas NSCLC (SCC) y tumores de carcinoma hepatocelular (HCC) por inmunohistoquímica (IHC). La expresión de PD-L1 se calificó de forma semicuantitativa mediante una metodología de puntuación histo (puntuación H) manual basada en la intensidad de la tinción y el porcentaje de células tumorales positivas. En nuestro análisis de IHC, la positividad de PD-L1 (PD-L1+) se definió como una puntuación H ≥ 20 . En paralelo, los datos de expresión de ARNm de PD-L1 se examinaron a partir de Cancer Genome Atlas (TCGA) en estas mismas indicaciones (503 NSCLC ACA, 489 NSCLC SCC y 191 HCC) y se analizaron comparando la expresión en tejidos normales emparejados de TCGA.

Con el análisis de RNASeq, se calcularon los datos como $\log_2(\text{RPKM} + 0.1)$ después de la normalización de RSEM, utilizando las tuberías de RNASeq de OmicSoft a través de las indicaciones de tumores TCGA. La expresión de PD-L1 está elevada en NSCLC ACA y SCC, en relación con aquellas en HCC. Al superponer las distribuciones y comparar los niveles de expresión en todas las indicaciones en TCGA, se clasificaron los perfiles de sobreexpresión para PD-L1 y se encontró que la cohorte de TCGA HCC tenía niveles de ARNm de PD-L1 muy reducidos, con un nivel medio de -0.8 en comparación con 1.3 para ACA y 1.5 para SCC, lo que equivale a un cambio de más de 2 veces en la expresión del nivel medio. Con RNAseq, este análisis define el 50% del adenocarcinoma NSCLC, el 54% del carcinoma de células escamosas NSCLC y el 6% de HCC como expresores altos para PD-L1.

La expresión de la proteína PD-L1 de células tumorales se midió en 45 muestras de adenocarcinoma de pulmón (ACA), 47 muestras de carcinoma de células escamosas de pulmón (SCC) y 36 muestras de carcinoma hepatocelular (HCC). 16/45 (35.6%) de ACA de pulmón, 21/47 (44.7%) de SCC de pulmón fueron positivos para PD-L1. Por el contrario, la positividad de PD-L1 se observó en solo 2/36 (5.6%) muestras de CHC.

En resumen, con el análisis de IHC y RNAseq en conjuntos de muestras de NSCLC y HCC humanos grandes e independientes, se ha encontrado que la expresión de PD-L1 está más enriquecida en NSCLC que en HCC. Dentro del NSCLC, hay hallazgos comparables entre el adenocarcinoma y los carcinomas de células escamosas. Es importante destacar que, entre la gran cantidad de muestras (128 para IHC y 1183 para RNAseq) en las 3 indicaciones, se observa una muy buena concordancia entre los análisis basados en proteínas y en ARNm. Este hallazgo establece así la base para la minería de datos basada en ARNm a gran escala en TCGA para indicaciones y segmentos de pacientes que pueden enriquecerse para las respuestas a las terapias inmunitarias basadas en PD-1/PD-L1 y/o TIM-3.

Ejemplo 11: los ensayos de competición indican que los anticuerpos anti-TIM3 humanizados se unen a un epítipo similar.

Como se describió anteriormente, el epítipo de TIM-3 reconocido por ABTIM3-hum21 se determinó mediante estudios de cristalografía de rayos X. ABTIM3-hum21 difiere en un solo aminoácido en la CDR2 de la cadena pesada de los otros anticuerpos anti-TIM3 humanizados descritos en este documento, y este aminoácido diferente (Gln55) está muy lejos ($> 6\text{\AA}$) del epítipo y, por lo tanto, no se esperaría que cambie la unión al antígeno. Se realizaron dos ensayos de competición diferentes para comparar la unión del epítipo entre ABTIM3-hum21 y otros dos anticuerpos anti-TIM3 humanizados, ABTIM3-hum03 y ABTIM3-hum11. Los resultados de ambos ensayos de competencia muestran que tanto ABTIM3-hum04 como ABTIM3-hum11 compiten de manera efectiva con ABTIM3-hum03 para unirse a TIM3, demostrando así que ABTIM3-hum03 y ABTIM3-hum11 también se unen a un epítipo similar que ABTIM3-hum21, por ejemplo, el epítipo como se describe en el presente documento.

11.1 Ensayo de competición por citometría de flujo

Se determinó la K_D de ABTIM3-hum21 marcando ABTIM3-hum21 con ficoeritrina, incubada con células 300.19 que expresan hTIM-3, y se estableció una curva de unión para determinar una K_D de 2.15.

Las concentraciones valoradas de hIgG1 no marcado (control de isotipo), ABTIM3-hum21 (control positivo), ABTIM3-hum11 o ABTIM3-hum03 se mezclaron con ABTIM3-hum21 en su K_D y se incubaron con células 300.19 que expresan hTIM-3 a 4°C durante 3 horas. Las células se lavaron dos veces y se procesaron en un citómetro de flujo LSRFortessa. Los datos se analizaron en FlowJo y los valores de MFI (PE) se representaron y graficaron en el software GraphPad (Prism). El experimento fue realizado dos veces.

Los resultados del ensayo de competencia demuestran que ABTIM3-hum11 y ABTIM3-hum03 (pero no el control de isotipo) compitieron con ABTIM3-hum21 para unirse a TIM3 humana expresada en las células 300.19 (Figura 20). La K_D para ABTIM3-hum11 y ABTIM3-hum03 se calculó a partir de las curvas de unión; el K_D para ABTIM3-hum11 calculado fue de 2.276 nM y la K_D calculada para ABTIM3-hum03 fue de 2.413 nM. Estos resultados demuestran que ABTIM3-hum11 y ABTIM3-hum03 se unen a un epítipo similar o al mismo epítipo que ABTIM3-hum21.

11.2 Ensayo de competición Biacore

Se capturó el antígeno hTIM-3/His inmovilizando el anticuerpo anti-His (RU10000) en un chip CM5. El primer anticuerpo se inyectó para alcanzar la saturación ($> 90\%$). Luego se inyectó el segundo anticuerpo para evaluar si ocurre un segundo evento de unión. La aparición de un segundo evento de unión indica que los dos anticuerpos probados tienen diferentes epítopos. La falta de un segundo evento de unión, indica que los dos anticuerpos pueden reconocer y unirse al mismo epítipo. Los ensayos de control se realizaron cuando se probó un anticuerpo de prueba con un control de isotipo IgG1 humana, o cuando el anticuerpo de prueba se probó como el primer y segundo anticuerpo (por ejemplo, autociclo) para observar la línea de base de un evento de unión. La Tabla 14 resume la prueba de los ciclos de Biacore e indica qué los anticuerpos se usaron como primer y segundo anticuerpo en cada ciclo.

Tabla 14. Resumen de los ciclos de ensayo de competencia de Biacore

Ciclos	Primer anticuerpo	Segundo anticuerpo
1	hulG1	hulG1
2	hulG1	ABTIM3-hum21
3	hulG1	ABTIM3-hum03
4	hulG1	ABTIM3-hum11
5	ABTIM3-hum21	hulG1
6	ABTIM3-hum21	ABTIM3-hum21
7	ABTIM3-hum21	ABTIM3-hum03
8	ABTIM3-hum21	ABTIM3-hum11
9	ABTIM3-hum03	hulG1
10	ABTIM3-hum03	ABTIM3-hum21
11	ABTIM3-hum03	ABTIM3-hum03
12	ABTIM3-hum03	ABTIM3-hum11
13	ABTIM3-hum11	hulG1
14	ABTIM3-hum11	ABTIM3-hum21
15	ABTIM3-hum11	ABTIM3-hum03
16	ABTIM3-hum11	ABTIM3-hum11

La detección de la línea de base y el primer y segundo evento de unión se registran como RU (unidades de resonancia) y se pueden presentar en un sensograma. Un sensograma típico se muestra en la Figura 21, en el que se muestra un evento de unión después de la primera inyección de anticuerpo. Después de un lavado, se inyecta el segundo anticuerpo y se puede detectar una segunda unión. Los cambios significativos en RU indican un evento de unión. En la Tabla 15 se muestra un resumen de los cambios en RU detectados a partir de las inyecciones del primero y segundo anticuerpos del ensayo de competencia de Biacore.

Tabla 15. Resumen de los resultados del ensayo de competencia de Biacore

Inyección del primer anticuerpo		Inyección del segundo anticuerpo			
		hulG1	ABTIM3-hum21	ABTIM3-hum03	ABTIM3-hum11
hulG1	0.27	3.6	88.2	86.3	83.2
ABTIM3-hum21	95.85	4.5	6.6	7.6	8.1
ABTIM3-hum03	93.33	4.5	6.9	7.3	8.5
ABTIM3-hum11	93.48	3.8	NA ¹	5.3	7.2

¹ No se calculó ningún valor a partir del sensograma, debido a un problema desconocido del fluido.

Los resultados mostrados anteriormente demuestran que la inyección de ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum03 y ABTIM3-hum11 durante la primera inyección de anticuerpo da como resultado un evento de unión. La inyección de ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum03 y ABTIM3-hum11 como el segundo anticuerpo después de la inyección es el anticuerpo de control de IgG1 humano que produce un segundo evento de unión. Sin embargo, la inyección de cualquiera de los anticuerpos anti-TIM3 probados en el presente documento como el primer y segundo anticuerpos no dio lugar a un segundo evento de unión, lo que demuestra que para cada par del primero y segundo anticuerpos probados, hubo

competencia por unión con el mismo epítipo TIM3. Estos resultados indican que ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum03 y ABTIM3-hum11 se unen a un epítipo similar o al mismo epítipo en TIM3 humana.

Ejemplo 12: Propiedades farmacocinéticas de ABTIM3-hum11

- 5 Se evaluaron diversas propiedades farmacocinéticas de ABTIM3-hum11 en modelos de ratón y rata. ABTIM3-hum11 se inyectó por vía intravenosa en ratones a dosis variables, 1 mg/kg, 3 mg/kg y 10 mg/kg. Las muestras de sangre se obtuvieron en varios puntos de tiempo entre 0 y 672 horas (0-28 días). Se inyectaron 10 mg/kg de ABTIM3-hum11 por vía intravenosa en ratas, y se obtuvieron muestras de sangre en varios puntos de tiempo de 0-400 horas (0-16 días). Se determinó la concentración de ABTIM3-hum11 presente en el suero (Figuras 23A y 23B). Los resultados mostraron que ABTIM3-hum11 es estable tanto en suero de ratón como de rata. La Tabla 16 muestra las propiedades farmacocinéticas adicionales determinadas, incluida la vida media ($T_{1/2}$), la concentración máxima en suero (C_{max}), el AUC hasta la última concentración medible (AUC_{última}) y el AUC extrapolada hasta el infinito (AUC_{inf}).

Tabla 16. Resumen de las propiedades farmacocinéticas de ABTIM3-hum11

Especie	Dosis (mg/kg)		$T_{1/2}$ (h)	C_{max} (mg/mL)	AUC _{última} (h*mg/mL)	AUC _{inf} (h*mg/mL)
Ratón	1	N	3	3	3	3
		Media	142.3	17.3	1507.8	1571.4
		Estándar	96.9	0.7	337.9	439.5
	3	N	3	3	3	3
		Media	266.1	37.2	4617.9	5369.0
		Estándar	73.1	2.3	2109.8	2496.1
	10	N	3	3	3	3
		Media	254.9	147.5	23906.5	28621.7
		Estándar	39.2	13.2	4369.8	6314.1
Rata	10	N	3	3	3	3
		Media	400.8	243.4	26032.3	53767.1
		Estándar	75.9	19.1	895.8	5362.6

- 15 En un estudio de toxicidad, se administró a tres ratones inalterados una dosis única por inyección intravenosa a razón de 1 mg/kg, 3 mg/kg o 10 mg/kg de ABTIM3-hum11. Después de 28 días, no se observaron eventos adversos, lo que indica que el anticuerpo ABTIM3 es tolerable en modelos de ratón.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende una molécula de anticuerpo aislada capaz de unirse al dominio de inmunoglobulina de células T humanas y al dominio de mucina 3 (TIM-3) para uso en un método para tratar un cáncer en un sujeto en combinación con un segundo agente terapéutico,

5 en la que la molécula de anticuerpo comprende:

(a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 10; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14;

(b) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 4; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8;

(c) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 25; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14;

(d) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 24; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8;

(e) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 de la SEQ ID NO: 9; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 31; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 12, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 13, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 14; o

(f) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos de VHCDR1 de la SEQ ID NO: 3; una secuencia de aminoácidos de VHCDR2 de la SEQ ID NO: 30; y una secuencia de aminoácidos de VHCDR3 de la SEQ ID NO: 5; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de VLCDR1 de la SEQ ID NO: 6, una secuencia de aminoácidos de VLCDR2 de la SEQ ID NO: 7, y una secuencia de aminoácidos de VLCDR3 de la SEQ ID NO: 8.

2. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 1, en la que el segundo agente terapéutico se elige entre uno o más de una quimioterapia, una terapia anticancerígena dirigida, un fármaco oncolítico, un agente citotóxico, una terapia de base inmunitaria, una citoquina, un activador de una molécula coestimuladora, un inhibidor de una molécula inhibidora, una vacuna o una inmunoterapia celular;

opcionalmente, la que la composición farmacéutica se usa en combinación con:

(a) un agonista de una molécula coestimuladora elegida entre uno o más de ligando de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 o CD83; o

(b) un inhibidor de una molécula de punto de control inmunológico elegida entre uno o más de PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, CEACAM-1, CEACAM-5, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 o TGFR.

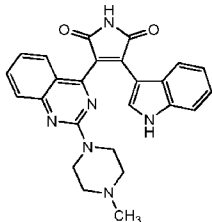
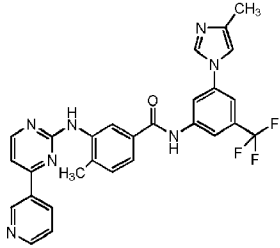
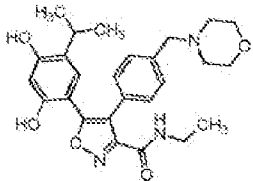
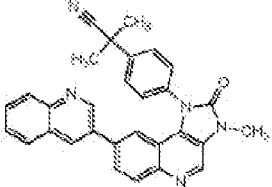
3. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 1 o 2, en la que la composición farmacéutica se usa en combinación con un agente quimioterapéutico.

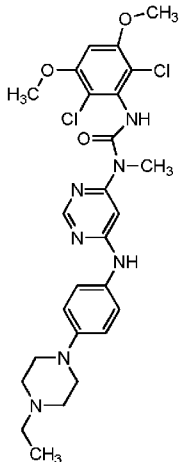
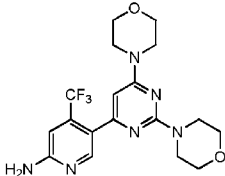
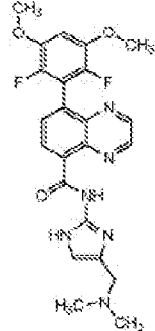
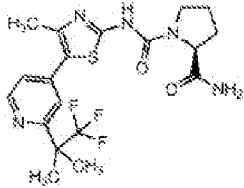
4. La composición farmacéutica para uso de la reivindicación 3, en la que el agente quimioterapéutico es uno o ambos de azacitidina o decitabina.

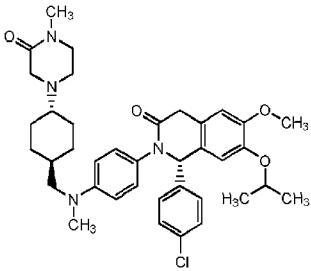
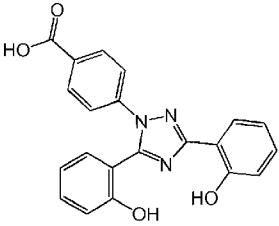
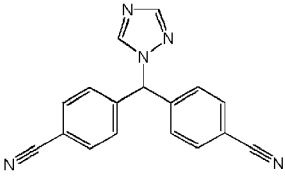
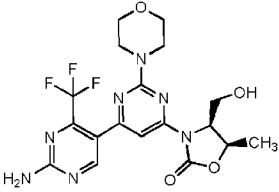
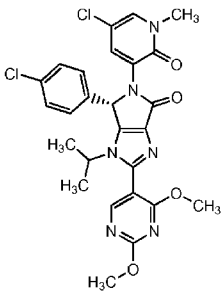
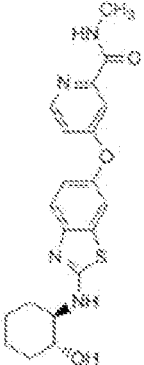
5. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que la composición farmacéutica se usa en combinación con uno o más de: 1) un inhibidor de la proteína quinasa C (PKC); 2) un inhibidor de la proteína de choque térmico 90 (HSP90); 3) un inhibidor de una fosfoinositida 3-quinasa (PI3K) y/u objetivo de rapamicina (mTOR); 4) un inhibidor del citocromo P450 (por ejemplo, un inhibidor de CYP17 o un inhibidor de 17alfa-hidroxilasa/C17-20 liasa); 5) un agente quelante de hierro; 6) un inhibidor de aromatasa; 7) un inhibidor de p53, por ejemplo, un inhibidor de una interacción p53/Mdm2; 8) un inductor de apoptosis; 9) un inhibidor de la angiogénesis; 10) un inhibidor de la aldosterona sintasa; 11) un inhibidor del receptor suavizado (SMO); 12) un inhibidor del receptor de prolactina (PRLR); 13) un inhibidor de señalización Wnt; 14) un inhibidor de CDK4/6; 15) un inhibidor del receptor 2 de factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR2)/receptor 4 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR4); 16) un inhibidor del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF); 17) un inhibidor de uno o más de c-KIT,

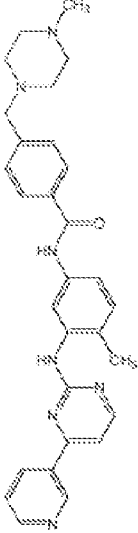
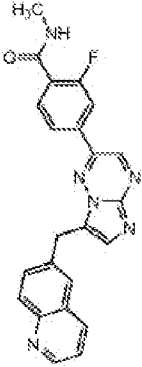
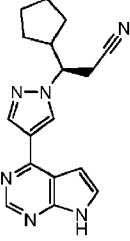
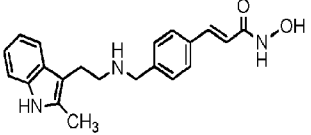
- liberación de histamina, Flt3 (por ejemplo, FLK2/STK1) o PKC; 18) un inhibidor de uno o más de VEGFR-2 (por ejemplo, FLK-1/KDR), PDGFRbeta, c-KIT o Raf quinasa C; 19) un agonista de la somatostatina y/o un inhibidor de la liberación de la hormona del crecimiento; 20) un inhibidor de quinasa de linfoma anaplásico (ALK); 21) un inhibidor del receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGF-1R); 22) un inhibidor de la P-glicoproteína 1; 23) un inhibidor del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR); 24) un inhibidor de BCR-ABL quinasa; 25) un inhibidor de FGFR; 26) un inhibidor de CYP11B2; 27) un inhibidor de HDM2, por ejemplo, un inhibidor de la interacción HDM2-p53; 28) un inhibidor de una tirosina quinasa; 29) un inhibidor de c-MET; 30) un inhibidor de JAK; 31) un inhibidor de DAC; 32) un inhibidor de la 1 1(3-hidroxilasa; 33) un inhibidor de IAP; 34) un inhibidor de la PIM quinasa; 35) un inhibidor de porcupina; 36) un inhibidor de BRAF, por ejemplo, BRAF V600E o BRAF de tipo silvestre; 37) un inhibidor de HER3; 38) un inhibidor de MEK; o 39) un inhibidor de una lípido quinasa

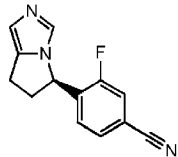
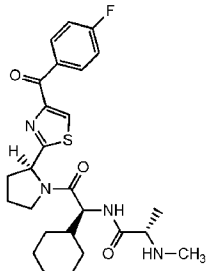
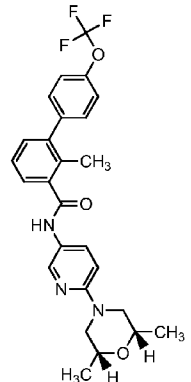
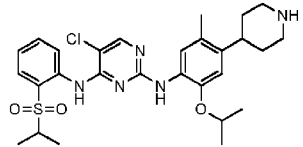
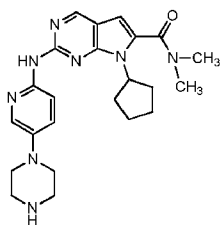
6. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la composición farmacéutica se usa en combinación con uno o más de los Compuestos A1 a A51 como se describe en la siguiente Tabla:

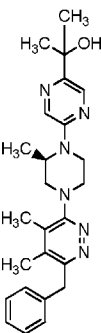
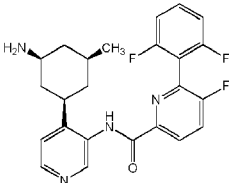
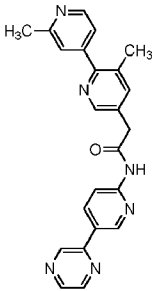
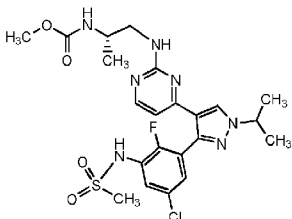
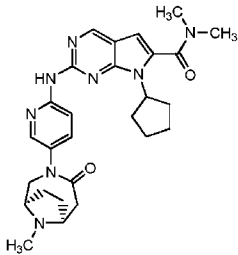
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A1	Sotrastaurina	
A2	Nilotinib HCl monohidrato TASIGNA®	 HCl • H ₂ O
A3		
A4	Dactolisib	

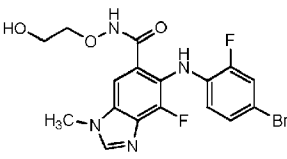
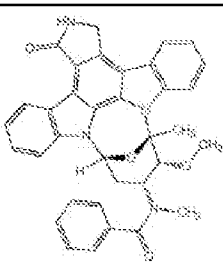
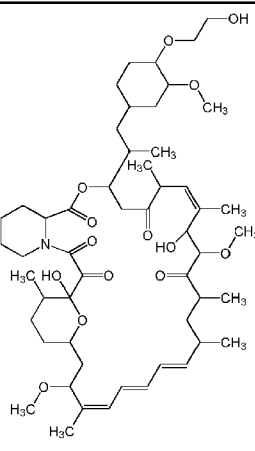
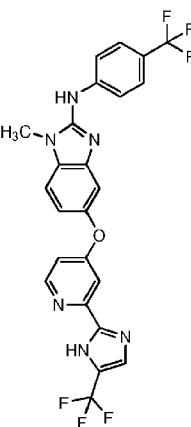
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A5		
A6	Buparlisib	
A7		
A8		
A9		Inhibidor de CYP17

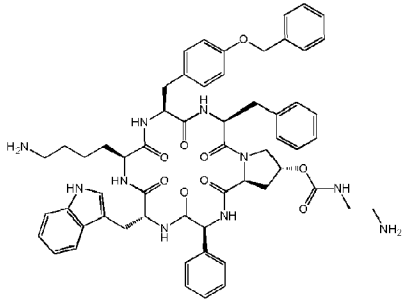
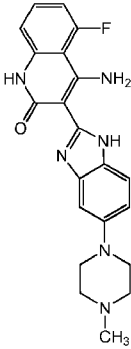
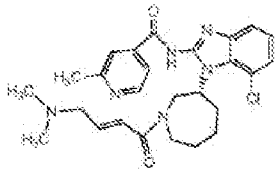
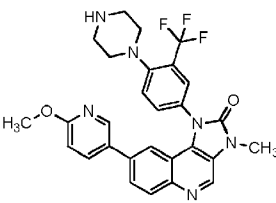
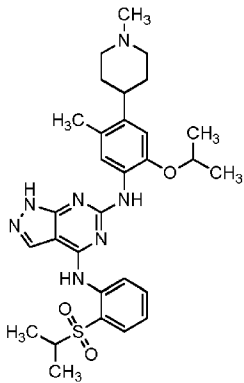
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A10		
A11	Deferasirox EXJADE®	
A12	Letrozol FEMARA®	
A13		
A14		
A15		

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A16	Mesilato de Imatinib GLEEVEC®	 <p>Mesilato</p>
A17		 <p>Sal diclorhidrato</p>
A18	Fosfato de Ruxolitinib JAKAFI®	 <p>H₃PO₄</p>
A19	Panobinostat	

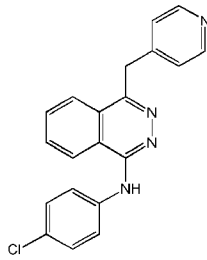
Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A20	Osilodrostat	
A21		
A22	Fosfato de Sonidegib	
A23	ceritinib ZYKADIA™	
A24		

Compuesto No.	Nombre genérico	Nombre comercial	Estructura del compuesto
A25			
A26			Anticuerpo monoclonal humano para PRLR
A27			
A28			
A29	Encorafenib		
A30			
A31			Anticuerpo monoclonal humano para HER3

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A32		Conjugado fármaco anticuerpo (ADC)
A33		Anticuerpo monoclonal o Fab para M-CSF
A34	Binimetinib	
A35	Midostaurin	
A36	Everolimus AFINITOR®	
A37		

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A38	Diaspartato de Pasireótido SIGNIFOR®	
A39	Dovitinib	
A40		
A41		
A42		

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A43		
A44		
A45		
A46	Valspodar AMDRAY ^{MR}	

Compuesto No.	Nombre genérico Nombre comercial	Estructura del compuesto
A47	Succinato de Vatalanib	 <p>succinato</p>
A48		Inhibidor de IDH
A49		Inhibidor de BCR-ABL
A50		Inhibidor de cRAF
A51		Inhibidor competitivo de ERK1/2 ATP

7. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que dicha molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo humanizado o una molécula de anticuerpo humano, y/o un anticuerpo monoespecífico o una molécula de anticuerpo biespecífica.

5 8. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que dicha molécula de anticuerpo tiene una primera especificidad de unión para TIM-3 y una segunda especificidad de unión para PD-1, LAG-3, CEACAM-1, CEACAM-5, PD-L1 o PD-L2; y/o en la que dicha molécula de anticuerpo comprende un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, por ejemplo, una mitad de anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de una mitad de anticuerpo.

10 9. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la que dicha molécula de anticuerpo es un Fab, F(ab')₂, Fv o un fragmento Fv de cadena sencilla (scFv); o comprende

una región constante de cadena pesada seleccionada de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, y/o

una región constante de cadena ligera elegida de las regiones constantes de cadena ligera de kappa o lambda.

15 10. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en la que dicha molécula de anticuerpo comprende:

una VH que comprende una secuencia de aminoácidos elegida de la SEQ ID NO: 1, 16, 26, 32, 36, 44, 48, 52, 60, 68, 72, 76, 80, 84, 92, o 100, o una secuencia de aminoácidos al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 1, 16, 26, 32, 36, 44, 48, 52, 60, 68, 72, 76, 80, 84, 92, o 100; y

20 una VL que comprende una secuencia de aminoácidos elegida de la SEQ ID NO: 2, 20, 40, 56, 64, 88, 96, o 104, o una secuencia de aminoácidos al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 2, 20, 40, 56, 64, 88, 96, o 104.

11. La composición farmacéutica para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que dicha molécula de anticuerpo comprende:

25 una VH que comprende una secuencia de aminoácidos elegida de la SEQ ID NO: 1, 16, 26, 32, 36, 44, 48, 52, 60, 68, 72, 76, 80, 84, 92, o 100; y

una VL que comprende una secuencia de aminoácidos elegida de la SEQ ID NO: 2, 20, 40, 56, 64, 88, 96, o 104.

12. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en la que dicha molécula de anticuerpo comprende:

30 una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos elegida de la SEQ ID NO: 18, 121, 28, 34, 38, 116, 46, 50, 54, 62, 70, 74, 78, 82, 86, 94 o 102; y

una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos elegida de la SEQ ID NO: 22, 42, 58, 66, 90, 98 o 106.

13. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en la que dicha molécula de anticuerpo comprende:

- 5 (a) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2;
- (b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20;
- 10 (c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20;
- (d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20;
- (e) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;
- 15 (f) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;
- (g) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;
- 20 (h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20;
- (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;
- (j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;
- 25 (k) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;
- (l) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64;
- 30 (m) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64;
- (n) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 68 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64;
- (o) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64;
- 35 (p) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;
- (q) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;
- 40 (r) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 68 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;
- (s) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;
- (t) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64;
- 45 (u) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64;

(v) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 88;

(w) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 96; o

5 (x) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 104.

14. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en la que dicha molécula de anticuerpo comprende:

10 (a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22;

(b) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22;

(c) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22;

15 (d) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42;

(e) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42;

20 (f) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42;

(g) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 116 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22;

(h) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 121 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42;

25 (i) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58;

(j) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58;

30 (k) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66;

(l) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66;

(m) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66;

35 (n) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66;

(o) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58;

40 (p) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 82 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58;

(q) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58;

(r) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58;

45 (s) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66;

- (t) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 82 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66;
- (u) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 86 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 90;
- 5 (v) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 98; o
- (w) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 102 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 106.
- 10 15. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en la que dicha molécula de anticuerpo comprende:
- (a) una región constante de cadena pesada de IgG4 humana con una mutación en la posición 228 de acuerdo con la numeración EU o la posición 108 de la SEQ ID NO: 108 o 110 y una región constante de cadena ligera kappa;
- (b) una región constante de cadena pesada de IgG4 humana con una mutación de Serina a Prolina en la posición 228 de acuerdo con la numeración EU o la posición 108 de la SEQ ID NO: 108 o 110 y una región constante de cadena ligera kappa;
- 15 (c) una región constante de cadena pesada de IgG1 humana con una mutación de Asparagina a Alanina en la posición 297 de acuerdo con la numeración EU o la posición 180 de la SEQ ID NO: 112 y una región constante de cadena ligera kappa;
- (d) una región constante de cadena pesada de IgG1 humana con una mutación de Aspartato a Alanina en la posición 265 de acuerdo con la numeración EU o la posición 148 de la SEQ ID NO: 113 y una mutación de Prolina a Alanina en la posición 329 de acuerdo con la numeración EU o la posición 212 de la SEQ ID NO: 113, y una región constante de cadena ligera kappa; o
- 20 (e) una región constante de cadena pesada de IgG1 humana con una mutación de Leucina a Alanina en la posición 234 de acuerdo con la numeración EU o la posición 117 de la SEQ ID NO: 114 y una mutación de Leucina a Alanina en la posición 235 de acuerdo con la numeración EU o la posición 118 de la SEQ ID NO: 114, y una región constante de cadena ligera kappa.
- 25 16. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en la que la molécula de anticuerpo tiene una, dos, tres o todas las siguientes propiedades:
- (a) es capaz de unirse a TIM-3 humano con una constante de disociación (K_D) de menos de aproximadamente 0.5 nM;
- 30 (b) es capaz de reducir:
- (i) unión de TIM-3 a fosfatidilserina (PtdSer), HMGB 1, CEACAM-1, Semaforina 4-A, o una combinación de las mismas, o una célula que expresa PtdSer, HMGB 1, CEACAM-1, Semaforina 4-A, o una combinación de las mismas; o
- (ii) penetración de membrana mediada por PtdSer de TIM-3;
- (c) es capaz de potenciar una respuesta de células T específica de antígeno; o
- 35 (d) se une a un dominio IgV de TIM-3.
17. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en la que el cáncer se elige entre un cáncer de pulmón, un melanoma, un cáncer renal, un cáncer de hígado, un cáncer de próstata, un cáncer de mama, un cáncer de cabeza y cuello, un cáncer colorrectal, un cáncer de páncreas, un cáncer de cerebro, un cáncer hematológico o una lesión metastásica del cáncer,
- 40 opcionalmente, en la que:
- (a) el cáncer de pulmón se elige de un cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), un adenocarcinoma de pulmón, un carcinoma de pulmón de células escamosas, o un cáncer de pulmón de células pequeñas;
- (b) el melanoma se elige entre un melanoma avanzado, un melanoma no resecable, un melanoma metastásico, un melanoma con una mutación BRAF, un melanoma con una mutación NRAS, un melanoma cutáneo, o un melanoma intraocular;
- 45 (c) el cáncer renal se elige de un carcinoma de células renales (RCC), un carcinoma de células renales metastásico, un carcinoma de células renales de células claras (CCRCC), un carcinoma de células claras de riñón, o un carcinoma de células papilares de riñón; o

(d) el cáncer hematológico se elige de un linfoma (por ejemplo, un linfoma no Hodgkin), un mieloma, o una leucemia.

18. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, para uso en el tratamiento de leucemia mieloide aguda (AML) o síndrome mielodisplásico (MDS) en un sujeto.

5 19. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, en la que el sujeto tiene, o se identifica que tiene, uno o más de:

(a) un cáncer que expresa TIM-3;

(b) un cáncer que es positivo para uno, dos o todos de PD-L1, CD8, o IFN- γ ;

(c) un cáncer que es triple positivo para PD-L1, CD8 e IFN- γ ; o

(d) un cáncer que es positivo para Linfocitos Infiltrantes de Tumores (TIL).

10 20. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en la que la molécula de anticuerpo se administra a una dosis de aproximadamente 1 a 30 mg/kg, por ejemplo, de 1 a 5 mg/kg, opcionalmente, en la que la molécula de anticuerpo se administra una vez por semana a una vez cada 2, 3 o 4 semanas o la molécula de anticuerpo se administra en una dosis de aproximadamente 10 a 20 mg/kg cada dos semanas.

15 21. La composición farmacéutica para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en la que la composición farmacéutica se usa en combinación con uno o más de los siguientes:

(a) un inhibidor de PD-1, opcionalmente, en el que el inhibidor de PD-1 es una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o una proteína de fusión o se elige de MDX-1106, Merck 3475, CT-011, AMP-224, o AMP-514;

(b) un inhibidor de PD-L1, opcionalmente, en el que el inhibidor de PD-L1 es una molécula de anticuerpo anti-PD-L1 o una proteína de fusión o se elige de YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, o MDX-1105;

20 (c) un inhibidor de LAG-3, opcionalmente, en el que el inhibidor de LAG-3 es una molécula de anticuerpo anti-LAG-3 o una proteína de fusión;

(d) un agonista de GITR, opcionalmente, en el que el agonista de GITR es una molécula de anticuerpo anti-GITR o una proteína de fusión;

25 (e) una quimioterapia para tratar un cáncer de pulmón, opcionalmente, en la que la quimioterapia es una terapia de doblete de platino;

(f) un inhibidor de indoleamino-pirrol 2,3-dioxigenasa (IDO) para tratar un cáncer de pulmón, opcionalmente, en el que el inhibidor de IDO es INCB24360;

30 (g) un inhibidor de CTLA-4 para tratar un cáncer de pulmón o un melanoma, opcionalmente, en el que el inhibidor de CTLA-4 es un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab) o un ligando soluble de CTLA-4, opcionalmente, en el que la molécula de anticuerpo, o composición farmacéutica, se usa además en combinación con un inhibidor de BRAF (por ejemplo, vemurafenib o dabrafenib);

(h) un inhibidor de MEK para tratar un cáncer de pulmón, un melanoma, o un cáncer renal;

(i) una vacuna contra el cáncer, opcionalmente, en la que la vacuna contra el cáncer es una vacuna contra el carcinoma renal de células dendríticas (DC-RCC);

35 (j) uno o más de:

(i) una terapia de base inmunitaria, opcionalmente, en la que la terapia de base inmunitaria comprende interleuquina-2 o interferón- α ;

(ii) un agente de direccionamiento, opcionalmente, en el que el agente de direccionamiento es un inhibidor de VEGF (por ejemplo, un anticuerpo anti-VEGF);

40 (iii) un inhibidor de tirosina quinasa de VEGF, opcionalmente, en el que el inhibidor de tirosina quinasa de VEGF se elige de sunitinib, sorafenib, axitinib o pazopanib;

(iv) un inhibidor de ARNi; o

45 (v) un inhibidor de un mediador secuencia abajo de la señalización de VEGF para tratar un cáncer renal, opcionalmente, en donde el inhibidor de un mediador secuencia abajo de la señalización de VEGF es un inhibidor del objetivo mamíferos de la rapamicina (mTOR), por ejemplo, everolimus o temsirolimus;

(k) uno, dos o todos los oxaliplatino, leucovorina o 5-FU, para tratar un cáncer de pulmón, un melanoma o un cáncer renal; o

(l) un inhibidor de tirosina quinasa para tratar un cáncer renal, opcionalmente, en el que el inhibidor de tirosina quinasa es axitinib.

- 5 22. Una composición farmacéutica que comprende una molécula de anticuerpo aislada capaz de unirse al dominio de inmunoglobulina de células T humanas y al dominio de mucina 3 (TIM-3), en la que la molécula de anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66, para su uso en un método para tratar la leucemia mieloide aguda (AML) en un sujeto en combinación con un agente quimioterapéutico.

10

Secuencia de la región variable del anticuerpo murino ABTIM3

Cadena pesada (118aa; SEQ ID NO: 1)

QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWIKQTPGQGLEWIGDIYPGNGDTSY
NPKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARVGGAFPMDTWGQGTSVTVSS

Cadena ligera (111 aa; SEQ ID NO: 2)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYQKPGQPPKLLIYAASNVES
GVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAIYFQCSRKDPSIFGGGKLEIK

Fig. 1A

Alineación de secuencia del anticuerpo murino ABTIM3 frente a las secuencias del anticuerpo murino de línea germinal

Cadena pesada (118 aa)

Gen V: 94,1% de identidad (271/288 nt) con IGHV1-12*

01F

Gen J: 90,57% idéntica (48/53) con IGHJ*01F

Total de 10 diferencias de aminoácidos

ABTIM3 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWIKQTPGQGLEWIGDIYPGNGDTSY
G1 -AY---S--- --R----- -V--- -R-----A-----

ABTIM3 NPKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSSTLSEDSAVYYCARVGGAFPMDTWGQGTSVTVSS
G1 ----- -V-----A- -----F---

Cadena ligera (111 aa)

Gen V: 99,66% idéntica (290/291 nt) con IGKV3-1*01F

Gen J: 97,06 de identidad con IGKJ1*01F

Total de 2 diferencias de aminoácidos

ABTIM3 DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYQKPGQPPKLLIYAASNVES
g1 ----- -V-----A-----F-----

ABTIM3 GVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAIYFQCSRKDPSIFGGGKLEIK
G1 -----M-----V-----

Fig.1B

	BIACore K_D (nM)	TIM-3-300,19 K_D (nM)	Célula de cyno K_D (nM)
anti-TIM-3#2	0.459	1.57	7.4
ABTIM3	0.042	0.16	0.68

Fig. 2A

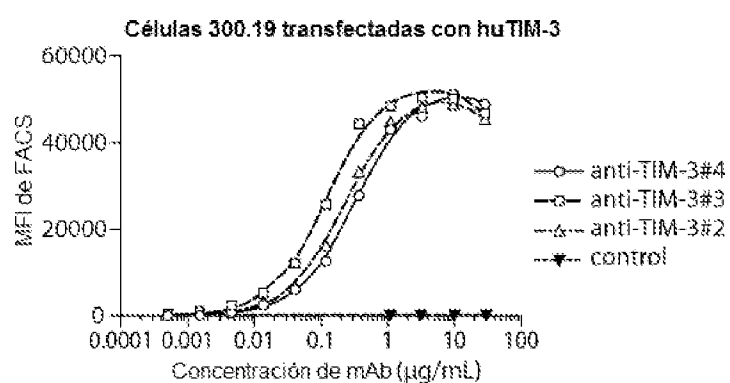


Fig. 2B

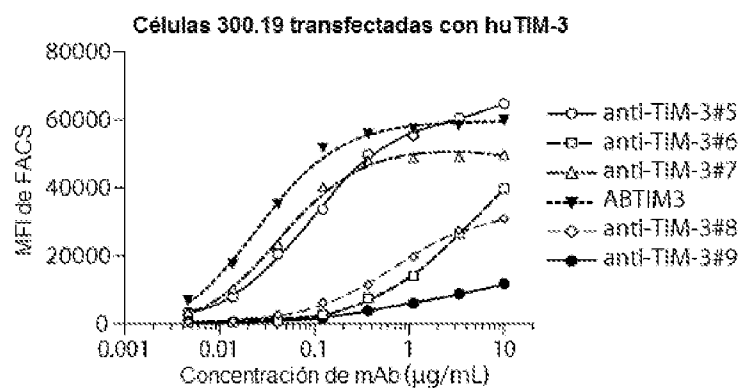


Fig. 2C

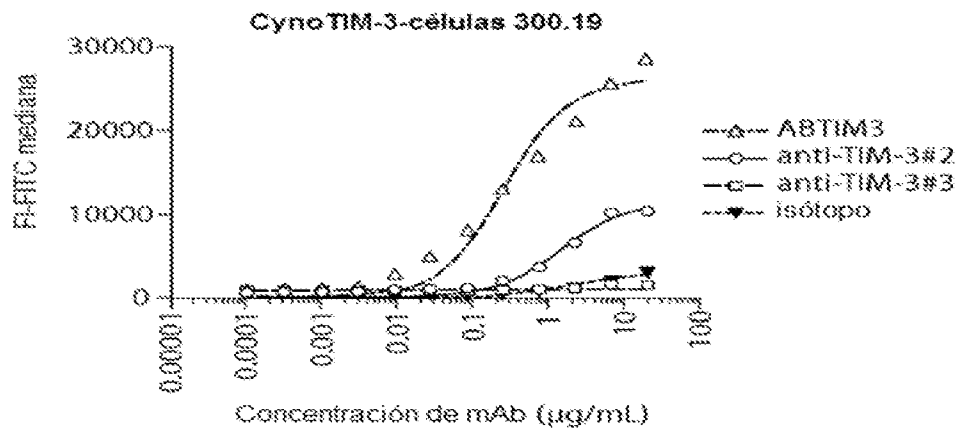


Fig. 2D

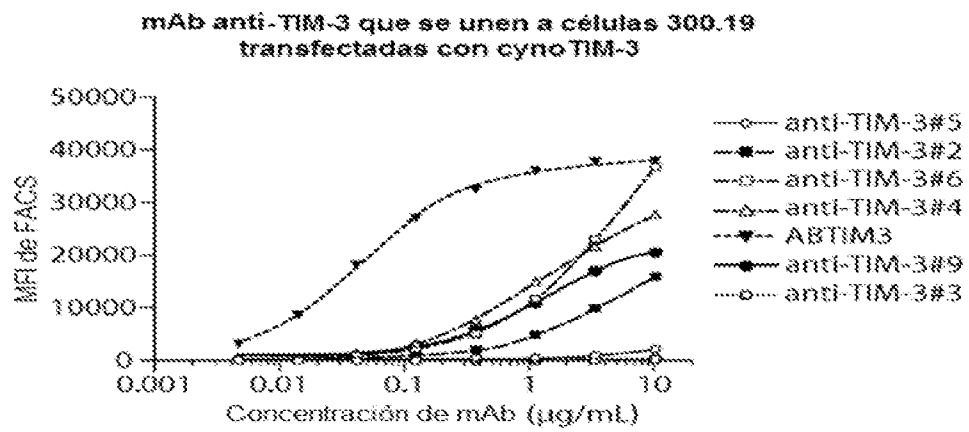


Fig. 2E

Estudio de unión con
proteína quimérica

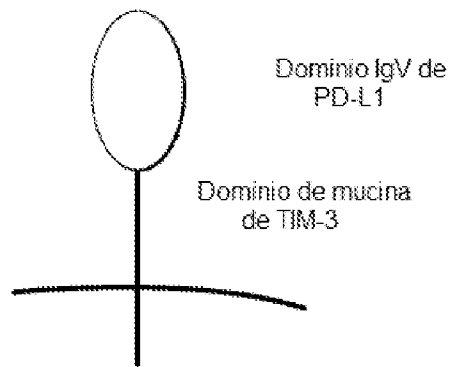


Fig. 3A

Unión a transfectantes 300.19
PD-L1IgVTIM-3mucina

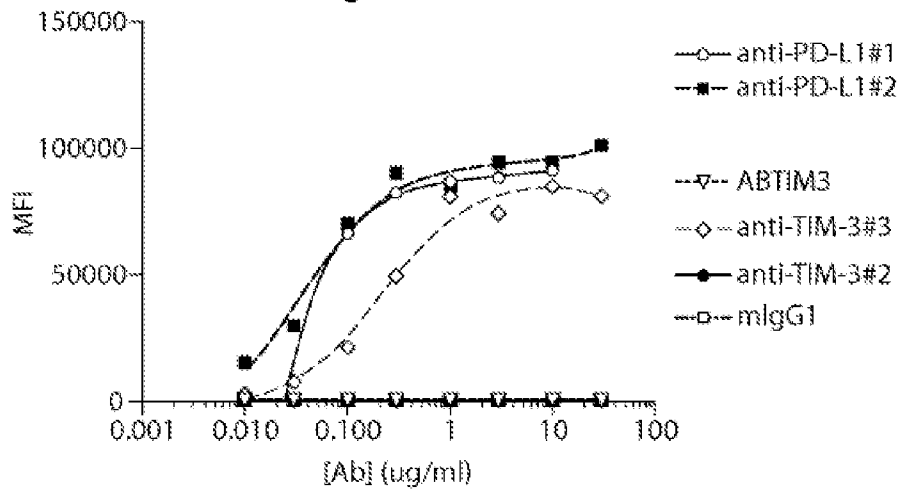


Fig. 3B

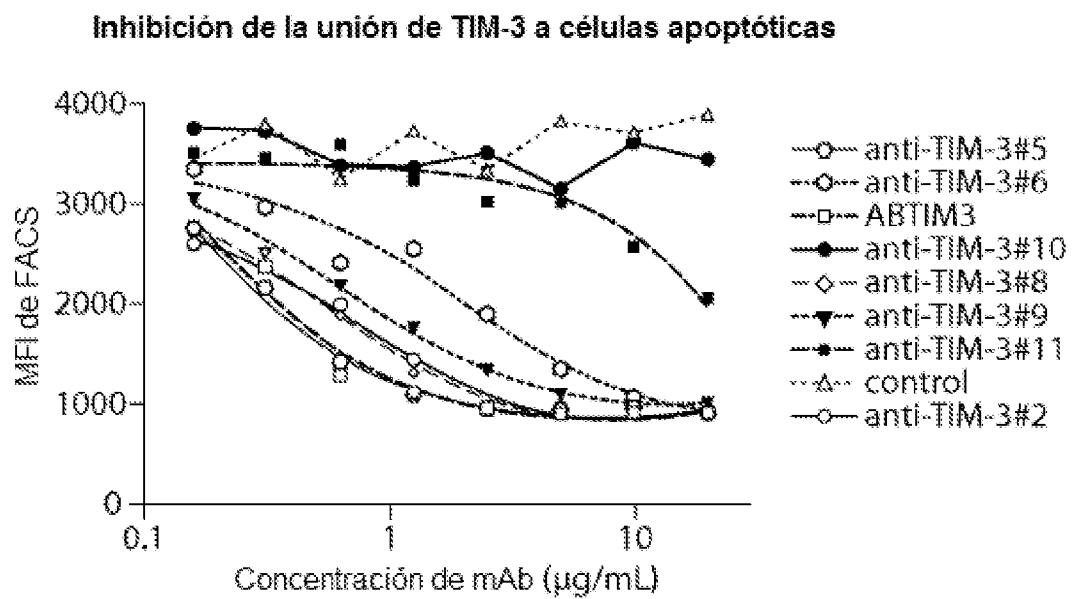


Fig. 4

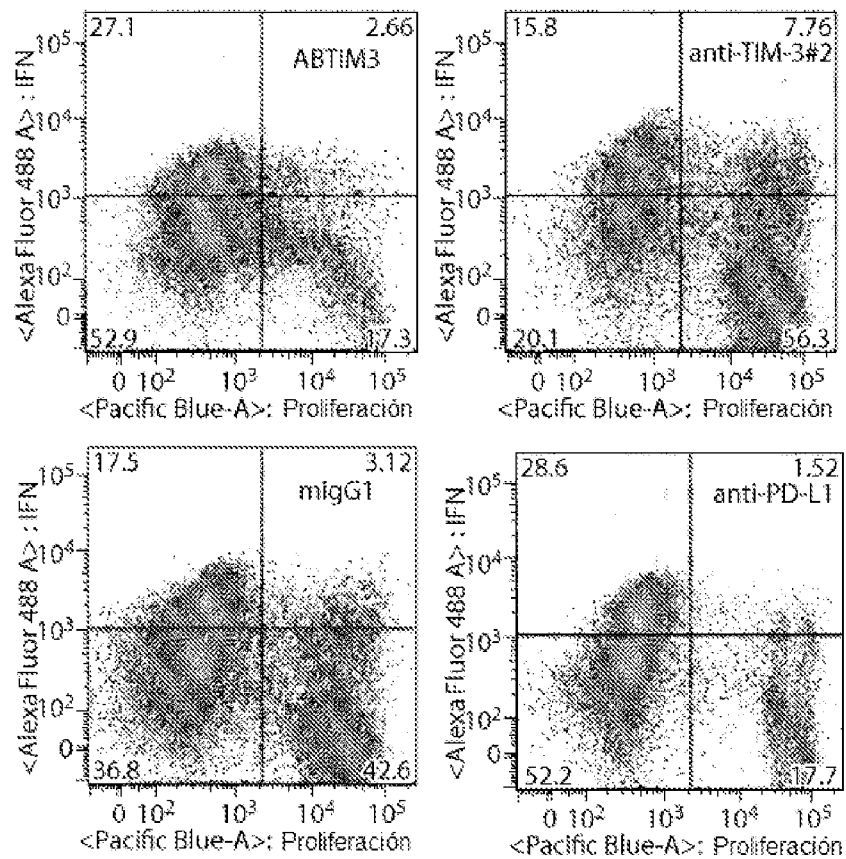


Fig. 5A

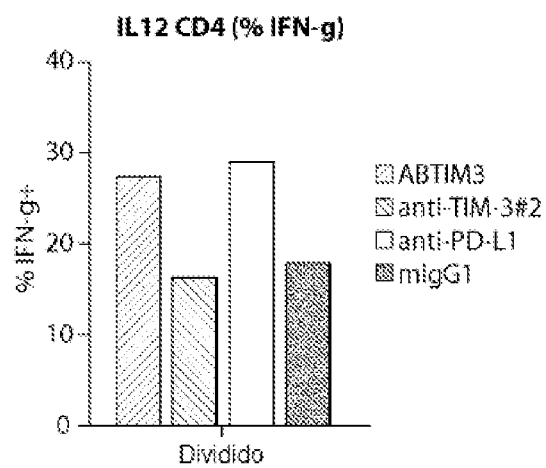


Fig. 5B

Efecto sobre la muerte de células K562 por células NK purificadas

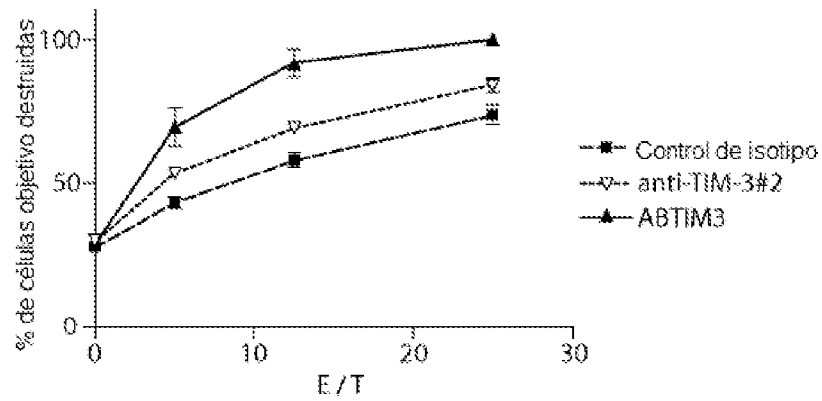


Fig. 6

Unión competitiva de FACS

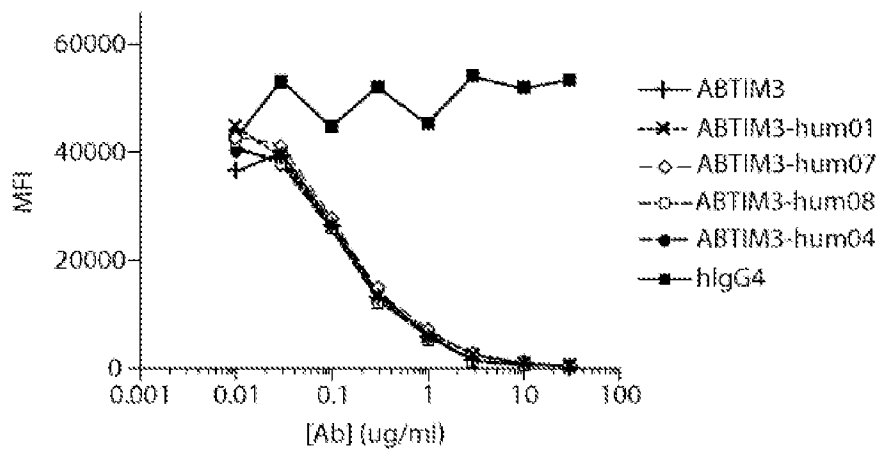


Fig. 7

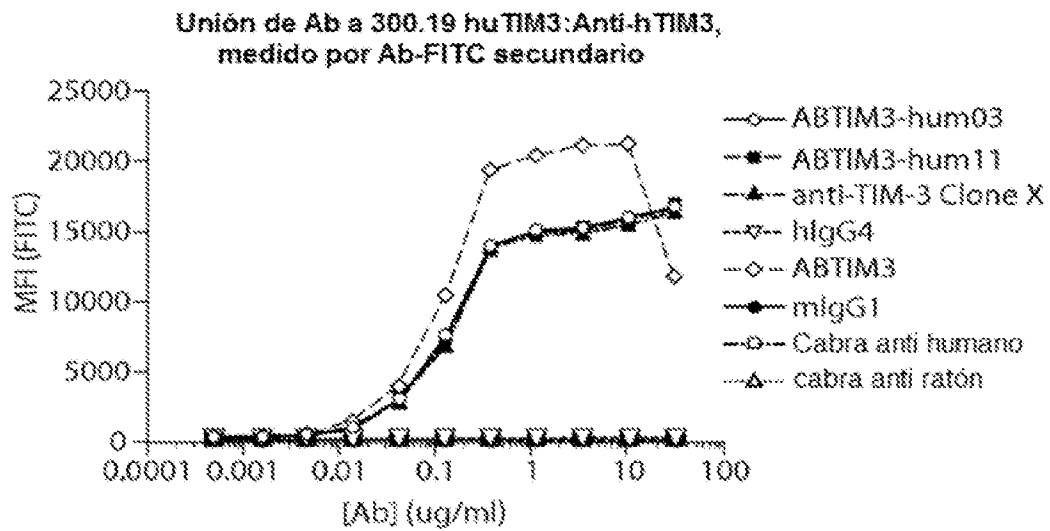


Fig. 8A

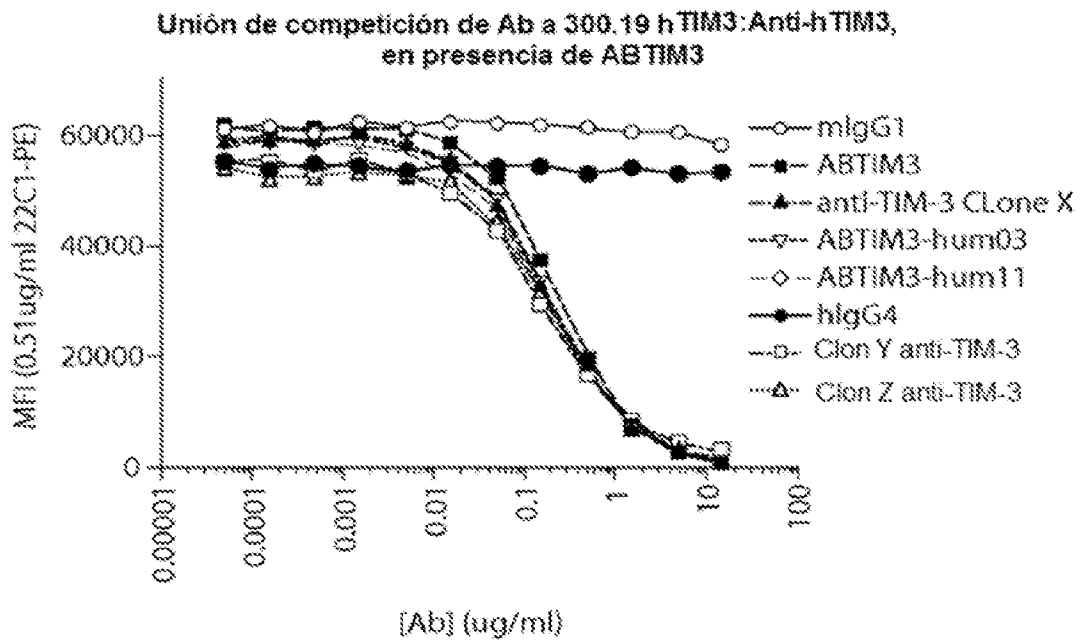


Fig. 8B

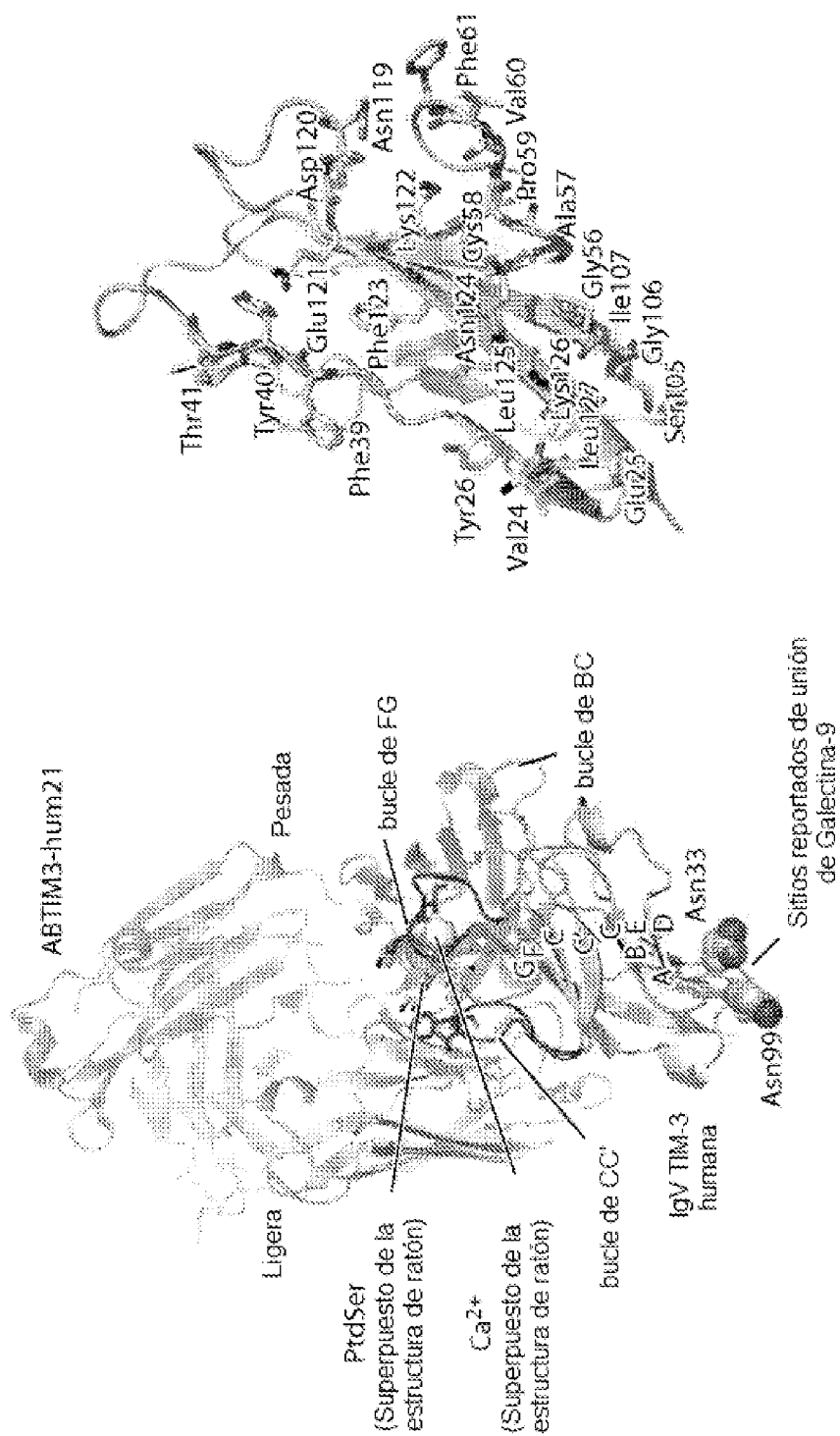
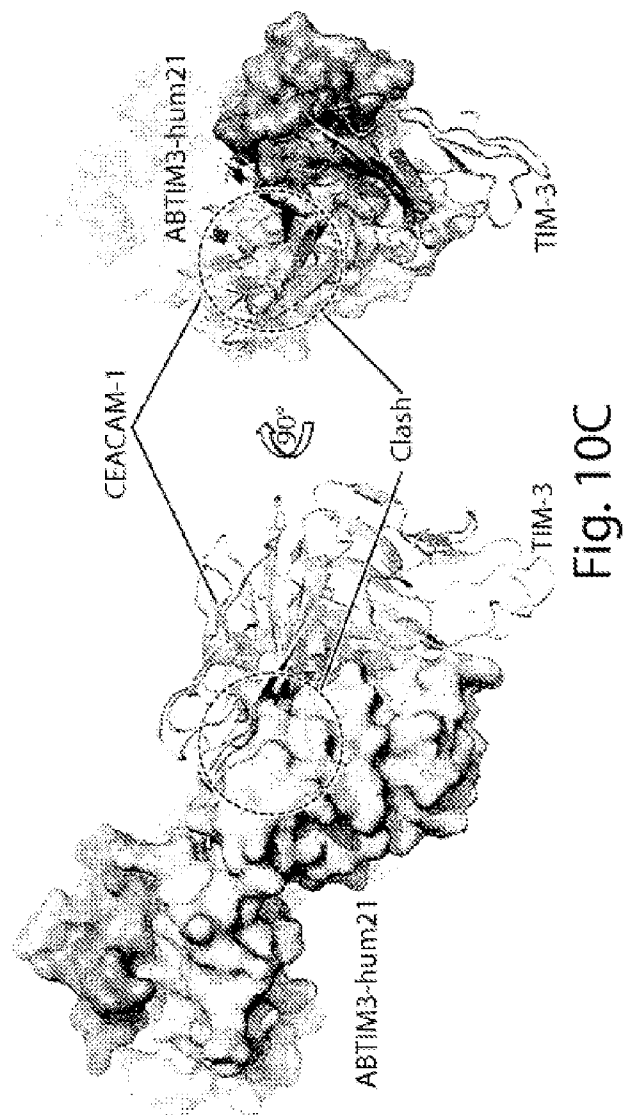
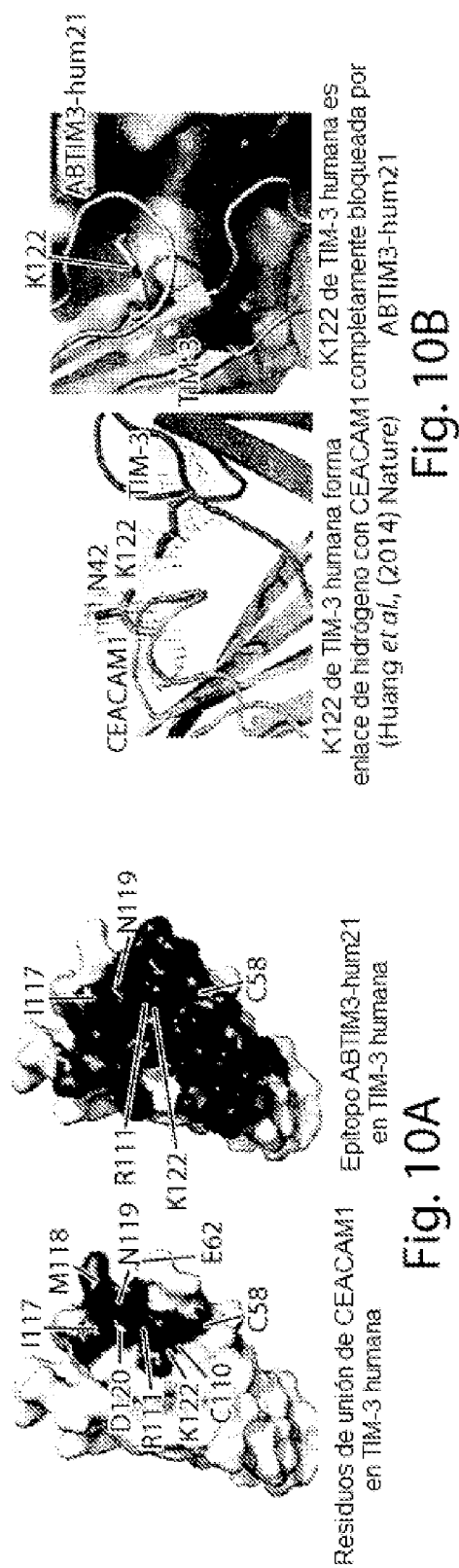
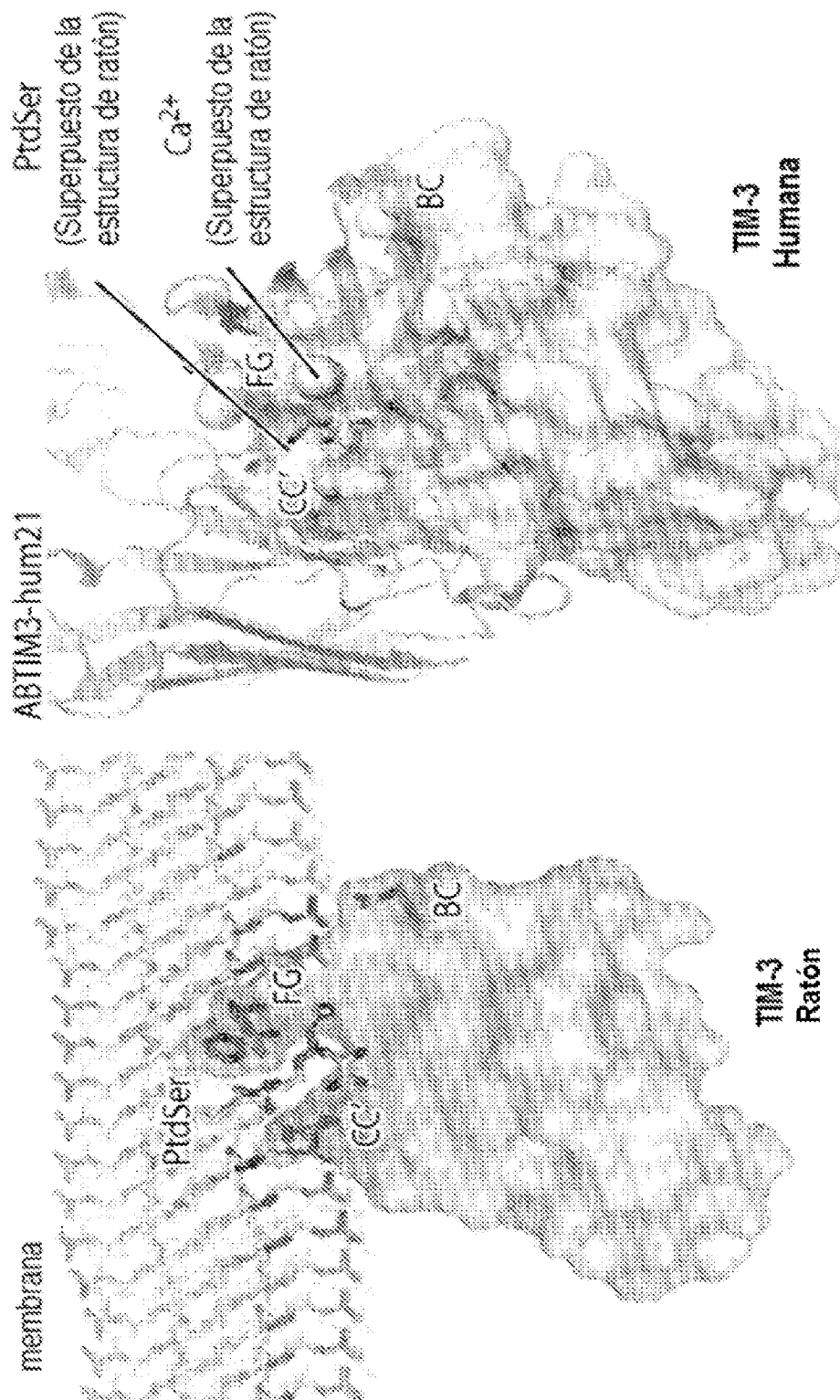


Fig. 9B

Fig. 9A





DeKruyff, *et al.*, (2010) *J Immunol.* 184(4):1918-1930

Fig. 11

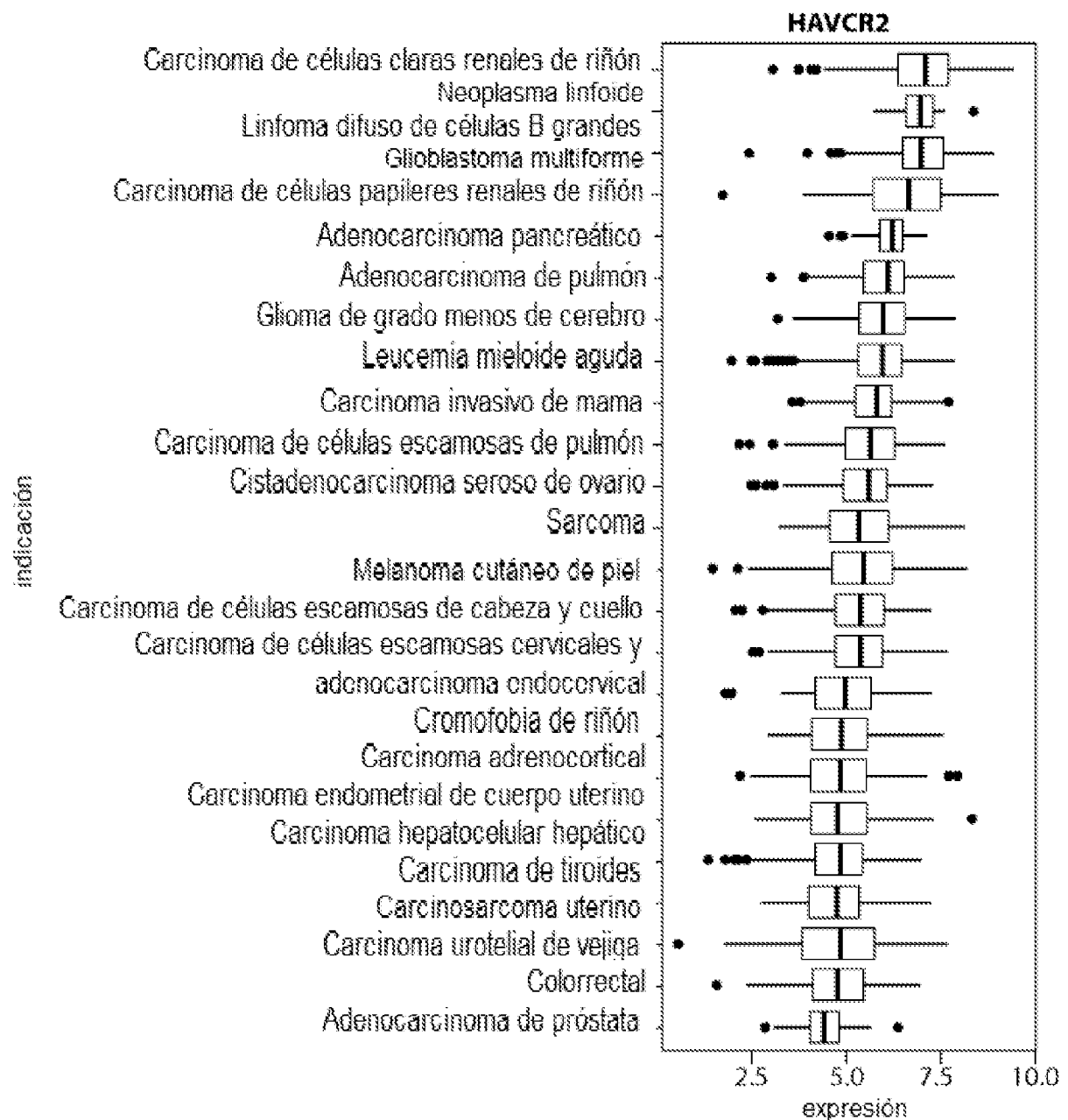


Fig. 12

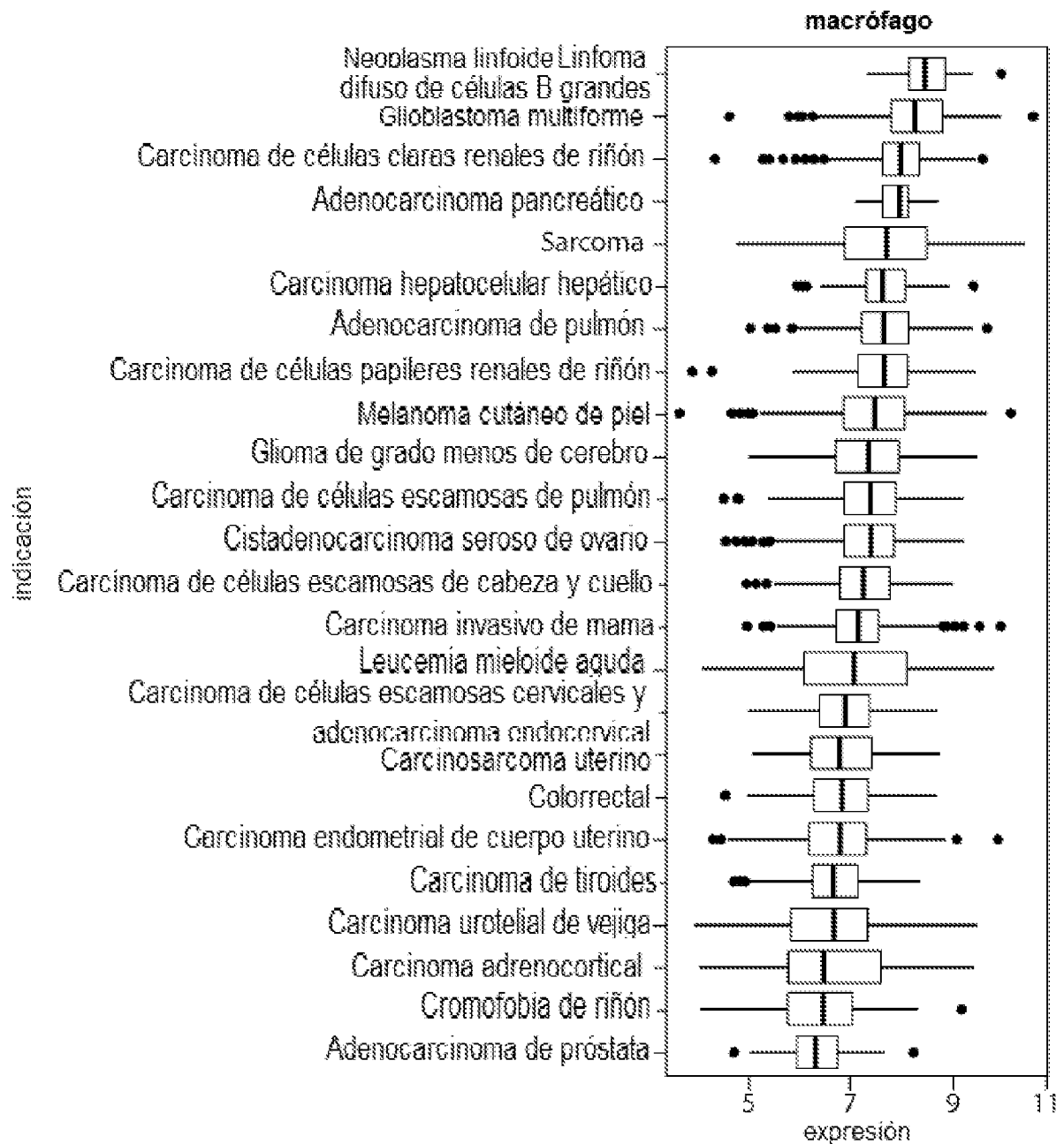


Fig. 13

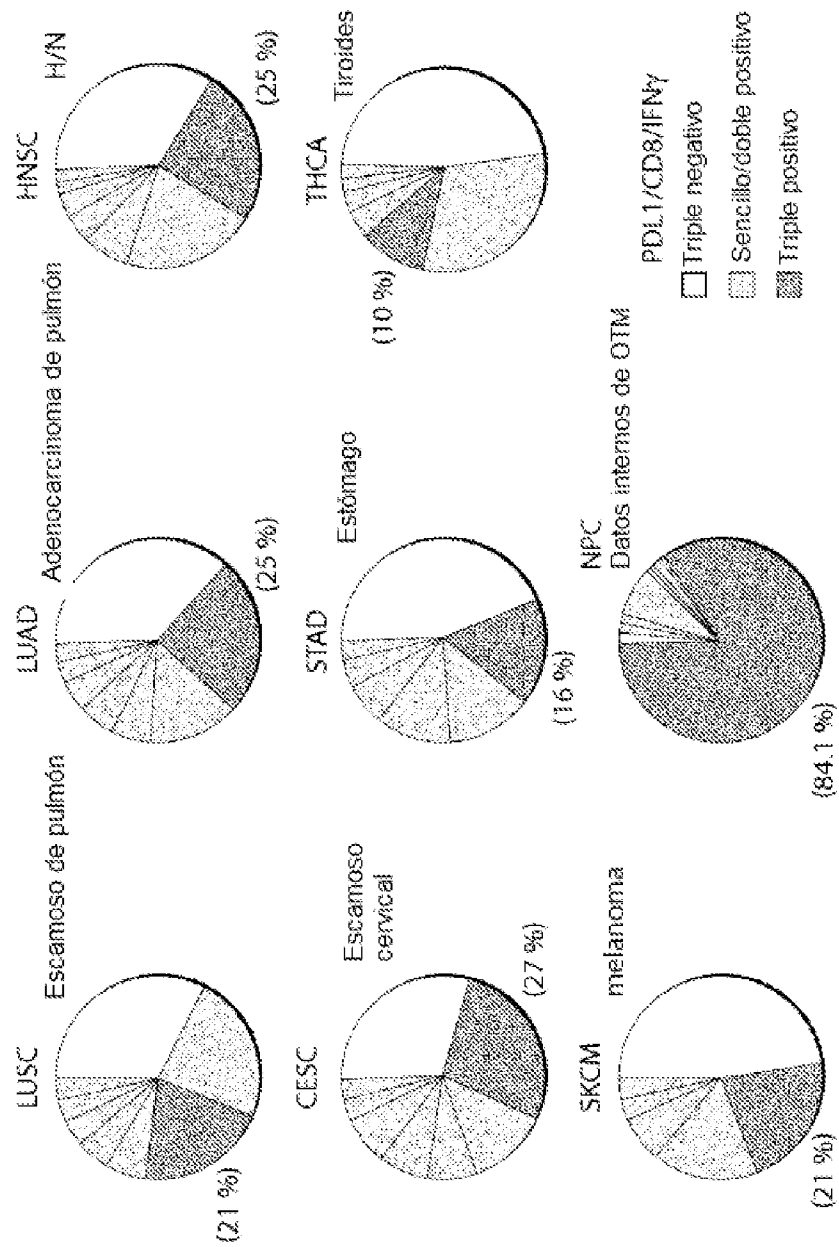


Fig. 14

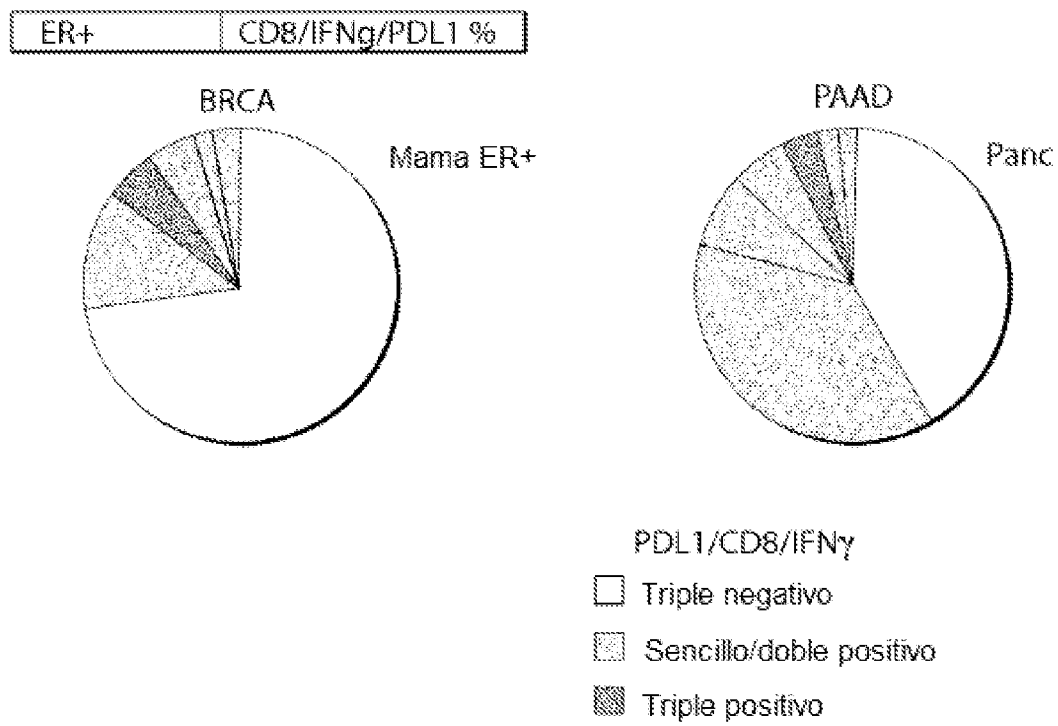


Fig. 15

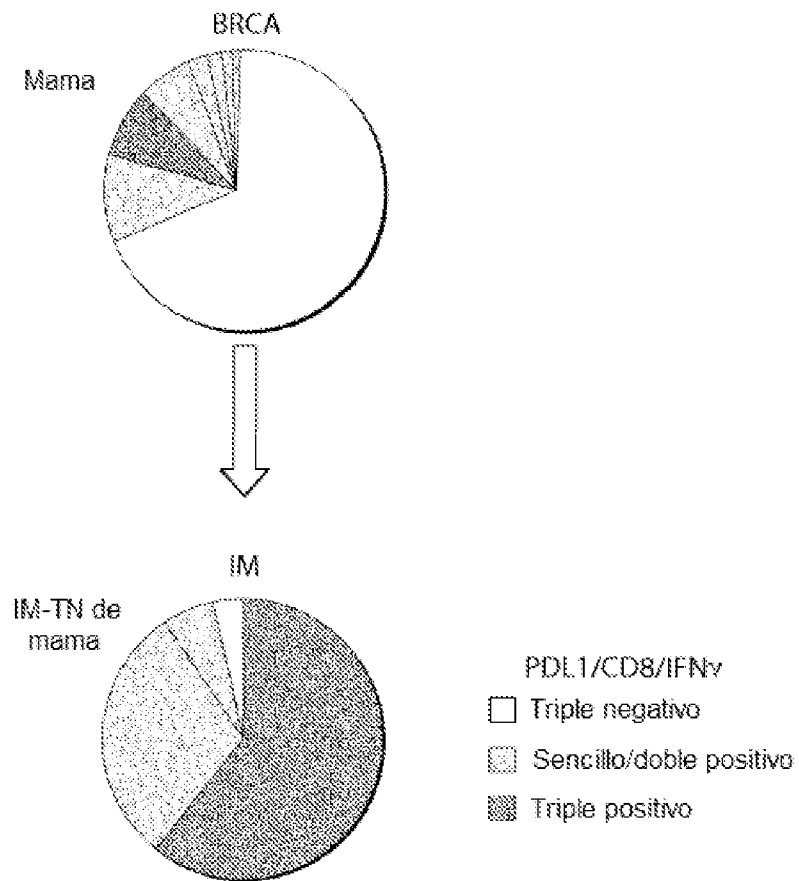


Fig. 16

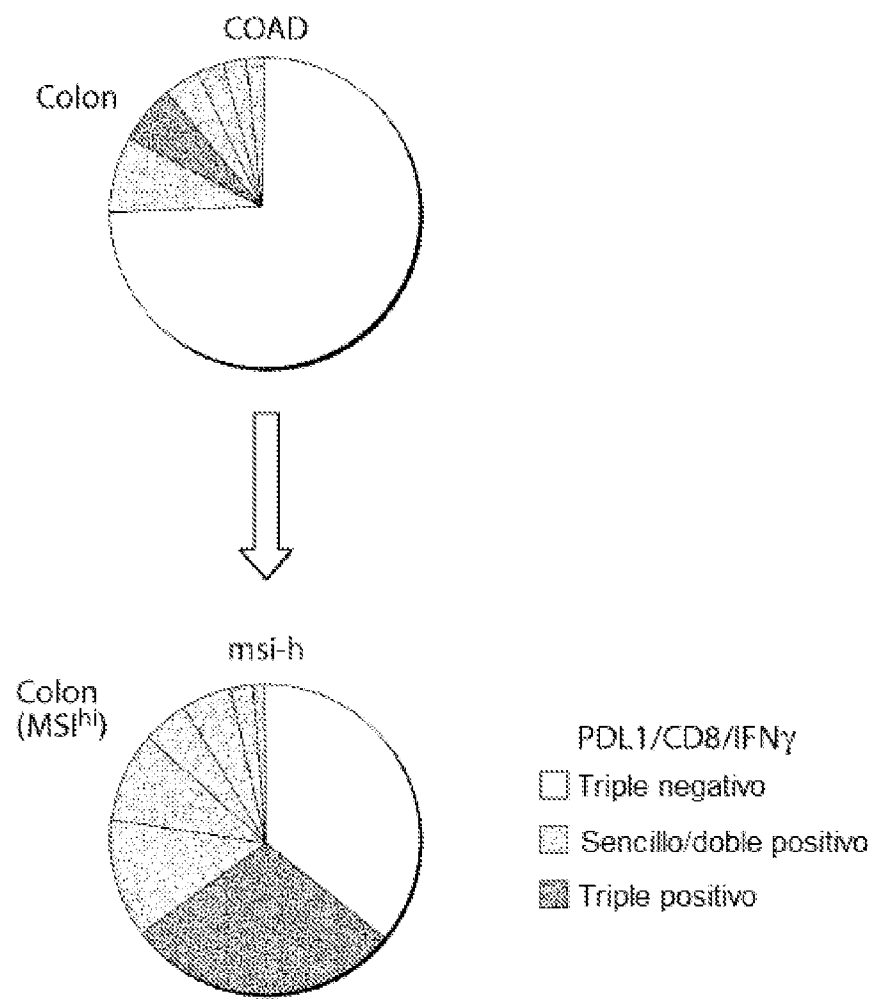


Fig. 17

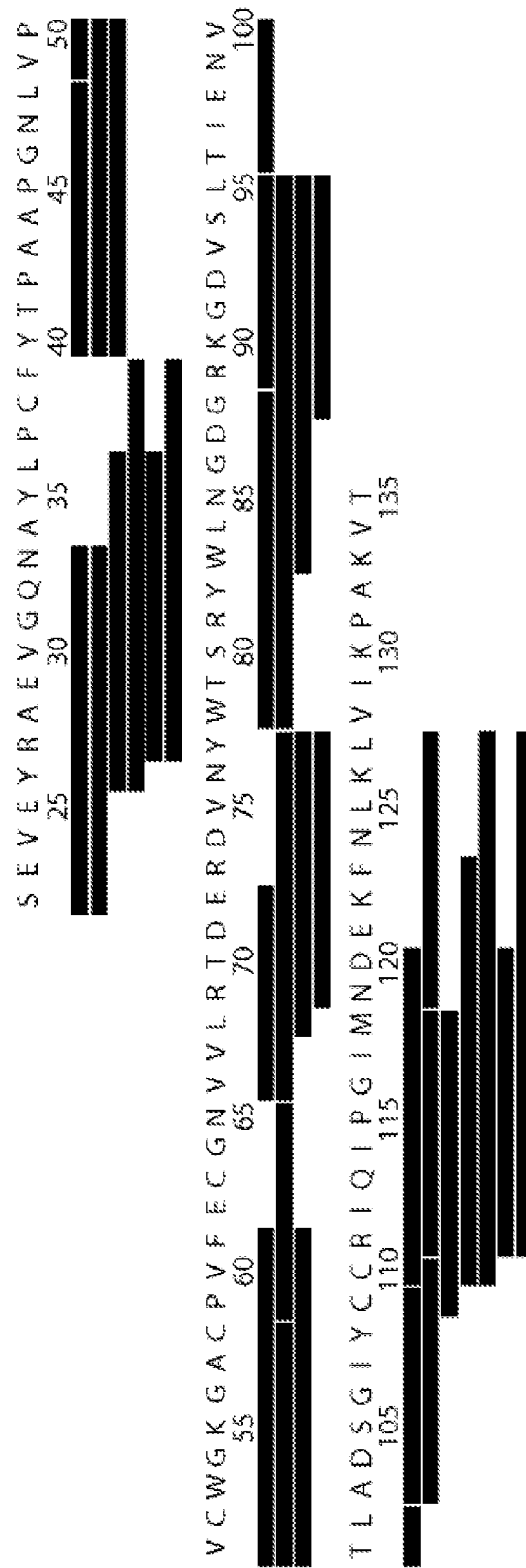


Fig. 18

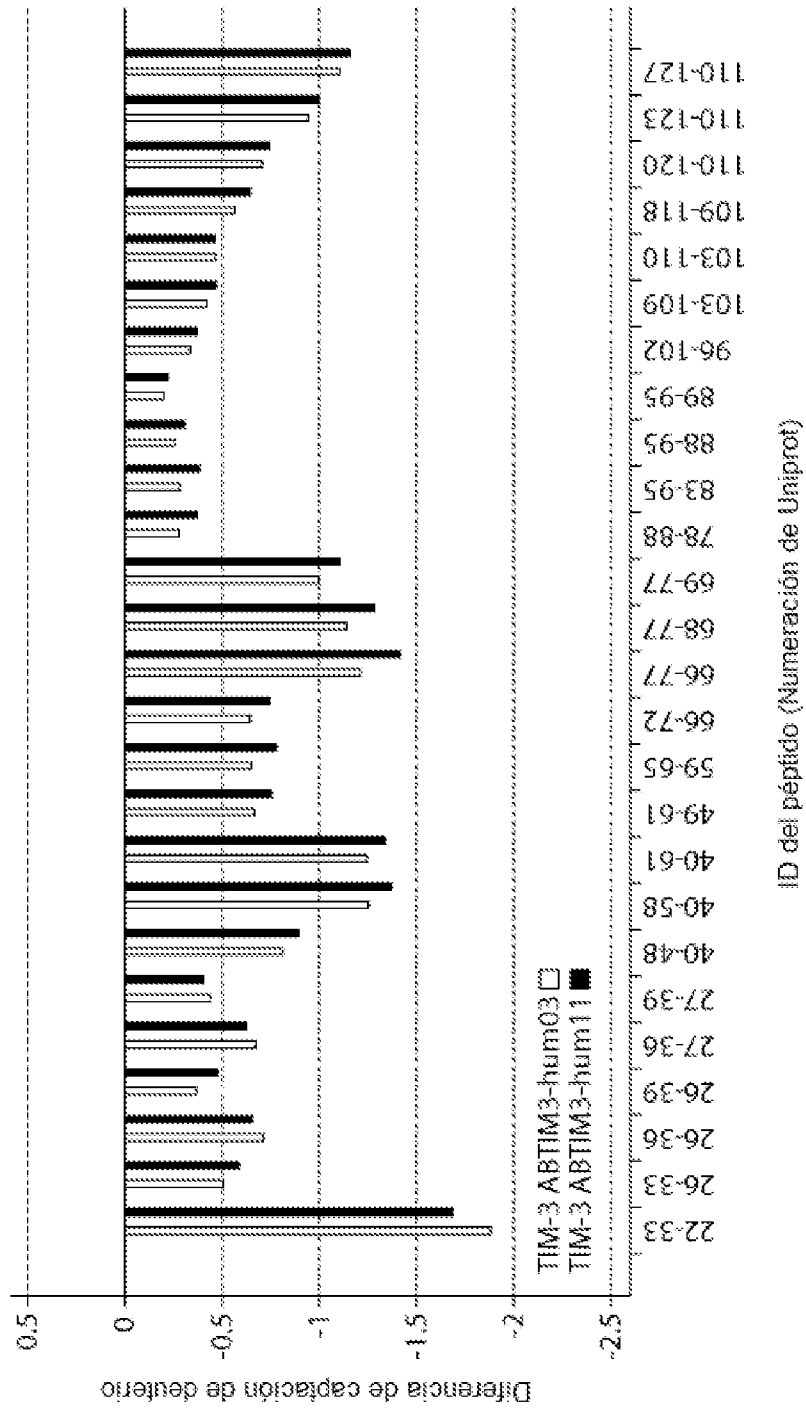


Fig. 19

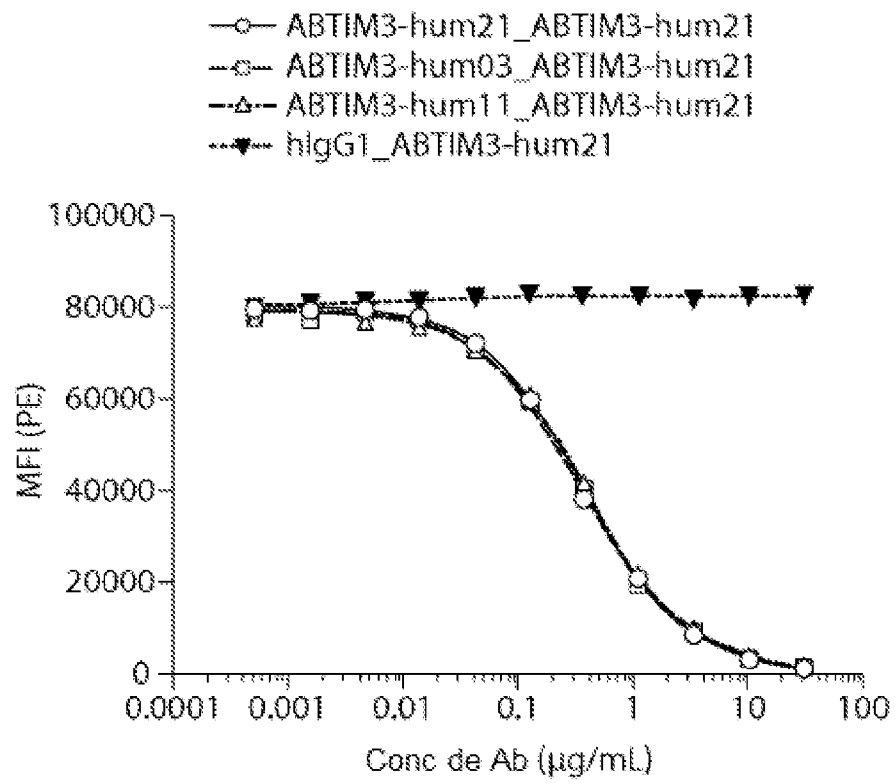


Fig. 20

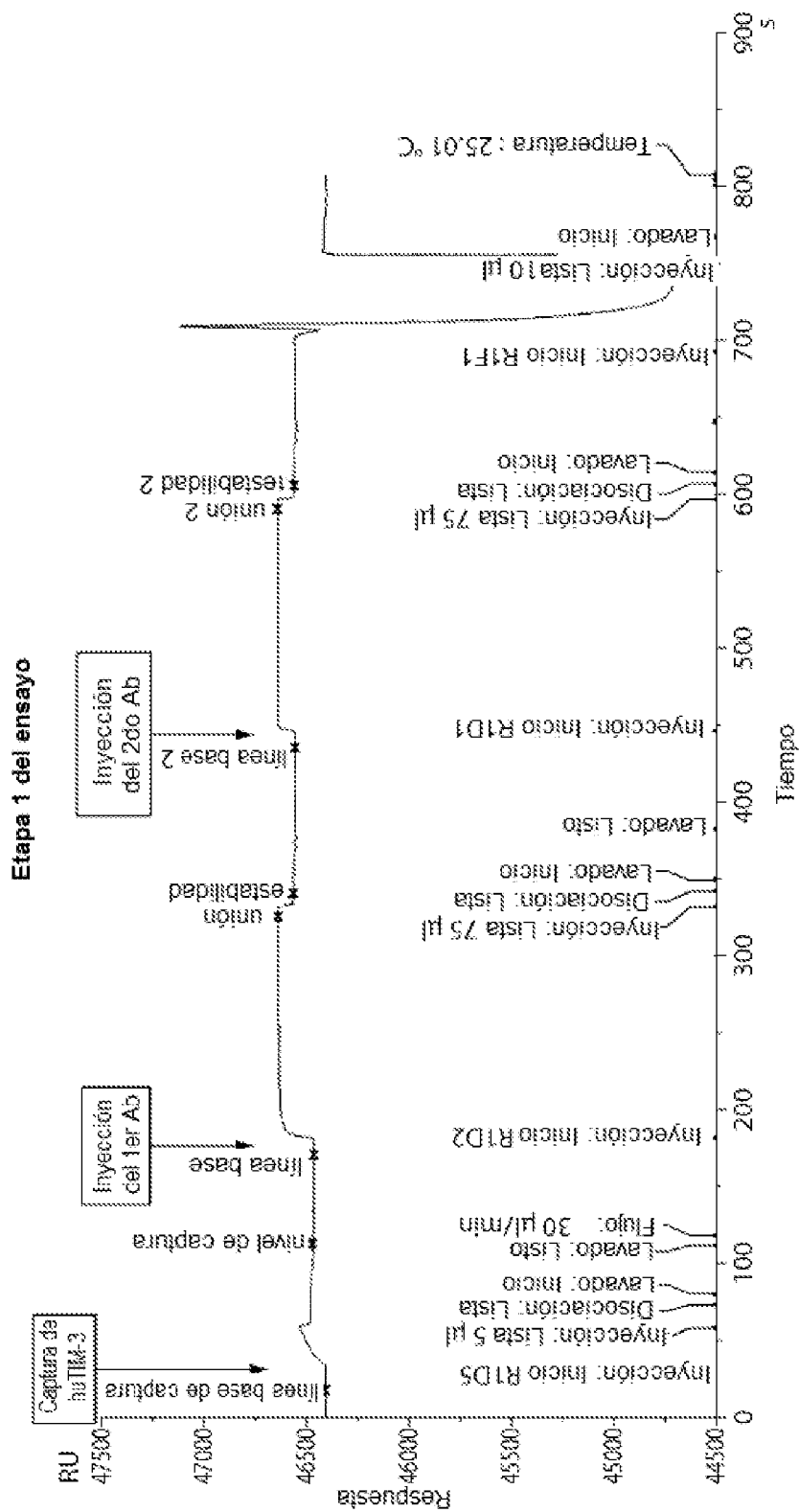


Fig. 21

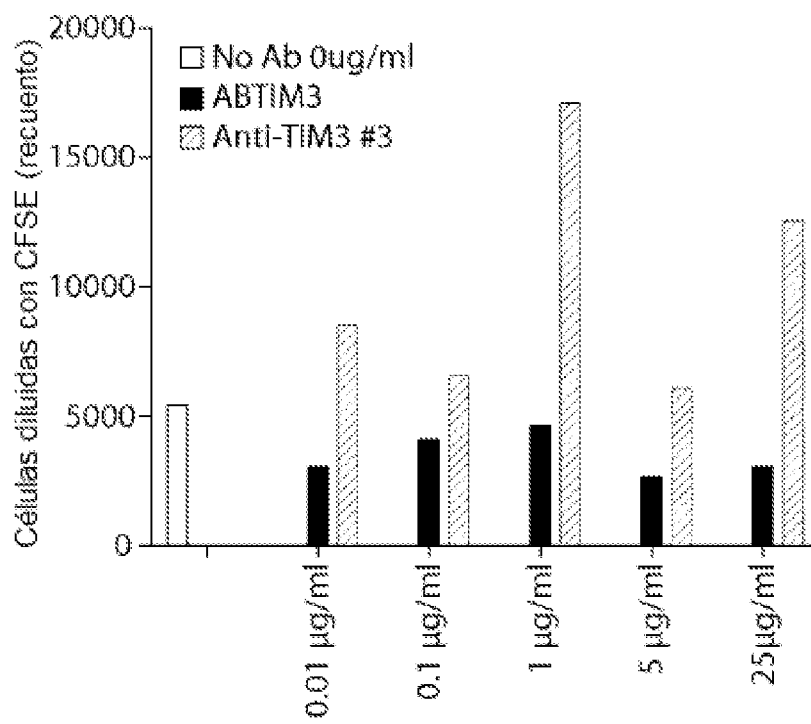


Fig. 22

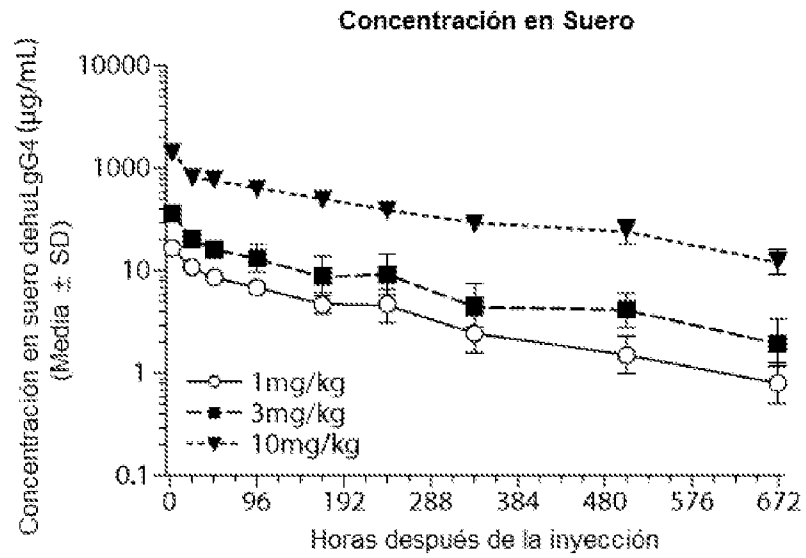


Fig. 23A

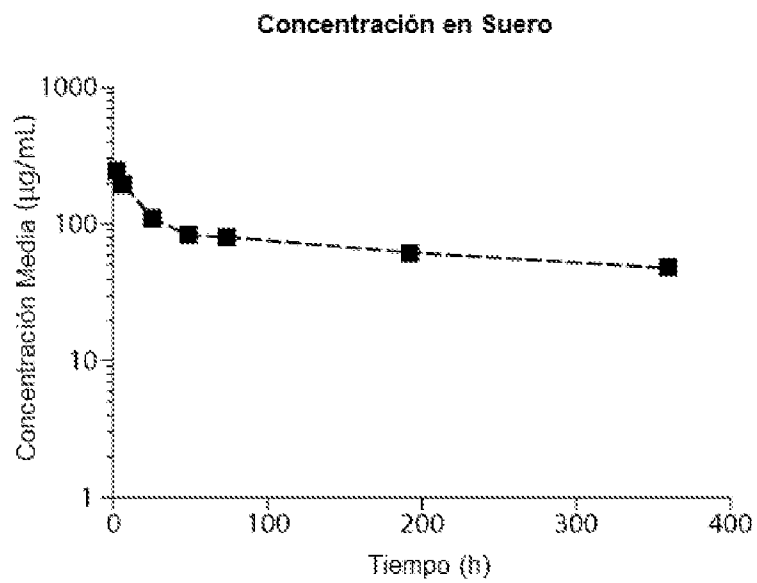


Fig. 23B