



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201718646 A

(43)公開日：中華民國 106 (2017) 年 06 月 01 日

(21)申請案號：105116461

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 05 月 26 日

(51)Int. Cl.：

C07K16/28 (2006.01)

C12N15/66 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2015/05/28

美國

62/167,582

2015/08/14

美國

62/205,279

2016/03/25

美國

62/313,487

(71)申請人：安可美德藥物股份有限公司 (美國) ONCOMED PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：葛尼 奧斯汀 GURNEY, AUSTIN L. (US)；解 鳴虹 XIE, MING-HONG (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：26 項 圖式數：27 共 387 頁

(54)名稱

T I G I T 結合劑和彼之用途

TIGIT-BINDING AGENTS AND USES THEREOF

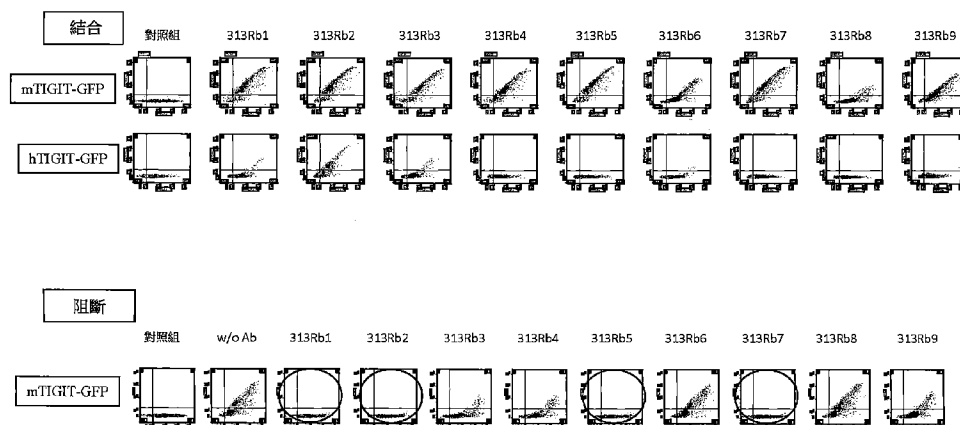
(57)摘要

本發明揭示特異性結合 TIGIT 之劑。該 TIGIT 結合劑可包括多肽、抗體及/或雙特異性劑。本發明亦揭示使用該劑以增強免疫反應及/或治療疾病(諸如癌症)之方法。

Agents that specifically bind TIGIT are disclosed. The TIGIT-binding agents may include polypeptides, antibodies, and/or bispecific agents. Also disclosed are methods of using the agents for enhancing the immune response and/or treatment of diseases such as cancer.

指定代表圖：

圖 1



201718646

發明摘要

※申請案號：105116461

※申請日：105 年 05 月 26 日

※IPC 分類：

C07K 16/28 (2006.01)
C12N 15/66 (2006.01)
A61K 39/95 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

TIGIT 結合劑和彼之用途

TIGIT-binding agents and uses thereof

【中文】

本發明揭示特異性結合 TIGIT 之劑。該 TIGIT 結合劑可包括多肽、抗體及/或雙特異性劑。本發明亦揭示使用該劑以增強免疫反應及/或治療疾病(諸如癌症)之方法。

【英文】

Agents that specifically bind TIGIT are disclosed. The TIGIT-binding agents may include polypeptides, antibodies, and/or bispecific agents. Also disclosed are methods of using the agents for enhancing the immune response and/or treatment of diseases such as cancer.

201718646

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第(1)圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：
無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

TIGIT 結合劑和彼之用途

TIGIT-binding agents and uses thereof

相關申請案之交叉參考

[0001] 本申請案主張在 2015 年 5 月 28 日提出申請之美國臨時申請案號 62/167,582、2015 年 8 月 14 日提出申請之美國臨時申請案號 62/205,279 及 2016 年 3 月 25 日提出申請之美國臨時申請案號 62/313,487 之優先權，將各案以其完整內容特此併入本文以供參考。

【技術領域】

[0002] 本發明概括關於結合 TIGIT 之劑，特別為特異性結合 TIGIT 的細胞外結構域之抗體，以及使用該劑調節免疫反應及/或治療疾病(諸如癌症)之方法。

【先前技術】

[0003] 免疫療法的基礎在於操控及/或調節免疫系統，包括先天免疫反應及後天免疫反應二者。免疫療法的概括目標為藉由控制對“外來劑”(例如病原體或腫瘤細胞)之免疫反應來治療疾病。然而，在一些事例中，免疫療法係用於治療可自對抗正常存在於體內的蛋白質、分子

及/或組織之異常免疫反應引起的自體免疫疾病。免疫療法可包括誘發或增強特異性免疫反應或抑制或降低特異性免疫反應之劑及方法。

[0004] 免疫系統係由眾多細胞類型所組成之高度複雜系統，該等細胞包括但不限於 T 細胞、B 細胞、自然殺手細胞、抗原呈現細胞、樹突細胞、單核球和巨噬細胞。該等細胞具有控制彼等交互作用及反應之複雜且細微的系統。細胞係利用活化和抑制機轉及回饋環路二者來維持查核反應且不容許不受控制之免疫反應的負面結果(例如自體免疫疾病)。

[0005] 癌免疫監測之概念係建基於免疫系統可辨識腫瘤細胞、啟動免疫反應及抑制腫瘤發展及/或進展之理論。然而，明確的是許多癌細胞已發展出逃避免疫系統之機制，其可容許不受抑制之腫瘤生長。癌/腫瘤免疫療法著重於發展可活化及/或激勵免疫系統的新型且新穎之劑，以達成更有效的抗腫瘤細胞攻擊，導致增加殺死腫瘤細胞及/或抑制腫瘤生長。

【發明內容】

本發明概述

[0006] 本發明提供結合具有 Ig 及 ITIM 結構域之 T 細胞免疫受體(TIGIT)的各種劑，包括但不限於特異性結合 TIGIT 的細胞外結構域之抗體。在特定的實施態樣中，該劑為 TIGIT 拮抗劑。本發明提供使用該劑之方法。在一

些實施態樣中，本發明提供該劑於免疫療法之方法。在一些實施態樣中，本發明提供使用該劑於癌症免疫療法之方法。在一些實施態樣中，該劑係用於誘發、活化、促進、增強、提高或延長免疫反應之方法中。在一些實施態樣中，該劑係用於誘發、活化、促進、增強、提高或延長對癌及/或腫瘤的免疫反應之方法中。在一些實施態樣中，該劑係用於抑制腫瘤或腫瘤細胞生長之方法中。在一些實施態樣中，該劑係用於治療癌症之方法中。在一些實施態樣中，該方法包含抑制癌細胞生長。在一些實施態樣中，該劑係與至少一種額外治療劑組合使用。

[0007] 本發明亦提供包含本文所述之劑的組成物，諸如醫藥組成物。亦提供編碼該劑之多核苷酸及/或載體及製造該劑之方法。提供包含或生產本文所述之劑的細胞，以及包含本文所述之多核苷酸及/或載體的細胞。

[0008] 在一個態樣中，本發明提供結合 TIGIT 之劑。在一些實施態樣中，該劑結合小鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，該劑結合人類 TIGIT。在一些實施態樣中，該劑結合小鼠 TIGIT 及人類 TIGIT。在一些實施態樣中，該劑為抗體。在一些實施態樣中，該劑為結合小鼠 TIGIT 之抗體。在一些實施態樣中，該劑為結合人類 TIGIT 之抗體。在一些實施態樣中，該劑為結合小鼠 TIGIT 及人類 TIGIT 之抗體。在一些實施態樣中，該劑為結合人類 TIGIT 及不結合小鼠 TIGIT 之抗體。

[0009] 在一些實施態樣中，該劑為特異性結合 TIGIT

的細胞外結構域之抗體，該抗體包含：包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)或 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3；及/或包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO：10)、QASQSNIIYSDLAW (SEQ ID NO：14)或 QASQNIYSDLAW (SEQ IDNO:81)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO：11)或 RASTLAS (SEQ ID NO：15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO：12)或 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO：16)之輕鏈 CDR3。

在一些實施態樣中，該劑為包含下列者之抗體：包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3；及/或包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO：10)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO：11)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO：12)之輕鏈 CDR3。

在其他的實施態樣中，該劑為包含下列者之抗體：包含 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SQ ID NO:8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3；及/或包含 QASQSNIIYSDLAW (SEQ ID NO：14)之輕鏈 CDR1、包含 RASTLAS (SEQ ID NO：15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO：16)之輕鏈 CDR3。

在其他

的實施態樣中，該劑為包含下列者之抗體：包含 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SQ ID NO:8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3；及/或包含 QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO：81)之輕鏈 CDR1、包含 RASTLAS (SEQ ID NO：15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO：16)之輕鏈 CDR3。

[0010] 在一些實施態樣中，該劑為特異性結合 TIGIT 的細胞外結構域之抗體，其中抗體包含與 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 具有至少 90%之序列一致性的重鏈可變區；及/或與 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 具有至少 90%之序列一致性的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含與 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 具有至少 95%之序列一致性的重鏈可變區；及/或與 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 具有至少 95%之序列一致性的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含：包含 SEQ ID NO：17 之重鏈可變區及包含 SEQ ID NO：18 之輕鏈可變區；包含 SEQ ID NO：19 之重鏈可變區及包含 SEQ ID NO：20 之輕鏈可變區；或包含 SEQ ID NO：32 之重鏈可變區及包含 SEQ ID NO：20 之輕鏈可變區。

[0011] 在一些實施態樣中，該劑為特異性結人類 TIGIT 的細胞外結構域之抗體，該抗體包含：包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57)之重鏈 CDR1、包含

YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO : 58)之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO : 59)之重鏈 CDR3 ; 及/或包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO : 60)之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO : 61)之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO : 62)之輕鏈 CDR3。

[0012] 在一些實施態樣中，該劑為特異性結合 TIGIT 的細胞外結構域之抗體，該抗體包含與 SEQ ID NO : 63 或 SEQ ID NO : 67 具有至少 90%之序列一致性的重鏈可變區；及/或與 SEQ ID NO : 64 或 SEQ ID NO : 68 具有至少 90%之序列一致性的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含與 SEQ ID NO : 63 或 SEQ ID NO : 67 具有至少 95%之序列一致性的重鏈可變區；及/或與 SEQ ID NO : 64 或 SEQ ID NO : 68 具有至少 95%之序列一致性的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含：包含 SEQ ID NO : 63 之重鏈可變區及包含 SEQ ID NO : 64 之輕鏈可變區，或包含 SEQ ID NO : 67 之重鏈可變區及包含 SEQ ID NO : 68 之輕鏈可變區。

[0013] 在一些實施態樣中，該劑為抗體，其為單克隆抗體、人源化抗體、人類抗體、重組抗體、嵌合抗體、雙特異性抗體、包含抗原結合部位之抗體片段、IgG 抗體、IgG1 抗體、IgG2 抗體或 IgG4 抗體。在一些實施態樣中，抗體為單價。在一些實施態樣中，抗體為雙價。在一些實施態樣中，抗體為單特異性。在一些實施態樣中，抗體為雙特異性。

[0014] 在一些實施態樣中，該劑為特異性結合 TIGIT 之抗體，其中抗體包含選自由下列所組成之群組的重鏈胺基酸序列：SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：29、SEQ ID NO：34 和 SEQ ID NO：56；及選自由下列所組成之群組的輕鏈胺基酸序列：SEQ ID NO：28 和 SEQ ID NO：30。在一些實施態樣中，抗體包含 SEQ ID NO：265 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO：28 之輕鏈胺基酸序列；SEQ ID NO：27 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO：28 之輕鏈胺基酸序列；SEQ ID NO：29 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO：30 之輕鏈胺基酸序列；SEQ ID NO：34 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO：30 之輕鏈胺基酸序列；或 SEQ ID NO：56 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO：30 之輕鏈胺基酸序列。

[0015] 在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體包含 SEQ ID NO：70 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO：72 之輕鏈胺基酸序列。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體包含 SEQ ID NO：82 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO：72 之輕鏈胺基酸序列。

[0016] 在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體不結合小鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體不結合大鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體不結合兔子 TIGIT。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體不結合狢猴 TIGIT。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之

抗體不結合狗 TIGIT。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體不結合豬 TIGIT。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體不結合食蟹獼猴 TIGIT。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體不結合恆河猴 TIGIT。

[0017] 在一些實施態樣中，該劑為特異性結合 TIGIT 之抗體，其中抗體包含來自選自由下列所組成之群組的抗體之重鏈可變區和輕鏈可變區：313R11、313R12、313R14、313R19 和 313R20。在一些實施態樣中，抗體係選自由下列所組成之群組：313R11、313R12、313R14、313R19 和 313R20。在一些實施態樣中，抗體為 313R19。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122180 之質體編碼的重鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122181 之質體編碼的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含重鏈，其包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122180 之質體編碼的重鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含輕鏈，其包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122181 之質體編碼的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122180 之質體編碼的重鏈可變區及由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122181 之質體編碼的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122180 之質體編碼的多肽及由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122181 之質體編碼的多肽。

[0018] 在另一態樣中，本發明提供寄存於 ATCC 且分配之指定編號為 PTA-122180 之質體及寄存於 ATCC 且分配之指定編號為 PTA-122181 之質體。

[0019] 在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體包含來自抗體 313M32 之重鏈可變區和輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122346 之質體編碼的重鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含多肽，其包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122346 之質體編碼的重鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的輕鏈。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122346 之質體編碼的重鏈可變區及由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122346 之質體編碼的多肽及由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的多肽。

[0020] 在另一態樣中，本發明提供寄存於 ATCC 且分配之指定編號為 PTA-122346 之質體及寄存於 ATCC 且分配之指定編號為 PTA-122347 之質體。

[0021] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，該劑為單價。在一些實施態樣中，該劑為雙價。在一些實施態樣

中，該劑為單特異性。在一些實施態樣中，該劑為雙特異性。在一些實施態樣中，雙特異性劑為異質二聚體劑或異質二聚體分子。在一些實施態樣中，異質二聚體劑包含特異性結合 TIGIT 的本文所述之抗體。

[0022] 在另一態樣中，本發明提供單離抗體，其與本文所述之劑(例如抗體)競爭與人類 TIGIT 特異性結合。在一些實施態樣中，單離抗體與本文所述之劑(例如抗體)結合人類 TIGIT 之相同的抗原決定區。在一些實施態樣中，單離抗體結合人類 TIGIT 的抗原決定區，該抗原決定區與以本文所述之劑(例如抗體)結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含在 SEQ ID NO：79 內的胺基酸。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含在 SEQ ID NO：80 內的胺基酸。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含在 SEQ ID NO：79 和 SEQ ID NO：80 內的胺基酸。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62 和 I109。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62 和 T119。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q64 和 I109。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸

Q64 和 T119。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62、Q64 和 I109。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62、Q64 和 T119。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62、I109 和 T119。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q64、I109 和 T119。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62、Q64、I109 和 T119。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其包含至少一種選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：4 的胺基酸 N58、E60、Q62、Q64、L65、F107、I109、H111、T117、T119、G120 和 R121。在一些實施態樣中，抗原決定區為構形抗原決定區。在一些實施態樣中，特異性結合人類 TIGIT 之抗體結合抗原決定區，其不包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 V100。

[0023] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，特異性結合 TIGIT 之劑為抗體，其中抗體為雙特異性劑的一部分。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含結合 TIGIT 之第一臂及結合第二標靶之第二臂(second arm)。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含特異性結合 TIGIT 之第一臂及第二

臂，其中第一臂包含本文所述之抗 TIGIT 抗體。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含結合 TIGIT 之第一臂及包含來自抗體的抗原結合部位之第二臂。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含結合 TIGIT 之第一臂及特異性結合 PD-1、PD-L1、CTLA4、TIM-3、LAG-3、OX-40 或 GITR 之第二臂。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含結合 TIGIT 之第一臂及特異性結合腫瘤抗原之第二臂。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含結合 TIGIT 之第一臂及包含免疫反應刺激劑之第二臂。在一些實施態樣中，免疫反應刺激劑係選自由下列所組成之群組：顆粒細胞-巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬細胞集落刺激因子(M-CSF)、顆粒細胞集落刺激因子(G-CSF)、介白素 2 (IL-2)、介白素 3 (IL-3)、介白素 12 (IL-12)、介白素 15 (IL-15)、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40L、抗 CD3 抗體、抗 CTLA4 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 GITR 抗體、抗 OX-40 抗體、抗 LAG-3 抗體和抗 TIM-3 抗體。

[0024] 在一些實施態樣中，雙特異性劑為異質二聚體劑或異質二聚體分子。在一些實施態樣中，雙特異性劑為同質二聚體劑或同質二聚體分子。在一些實施態樣中，異質二聚體分子包含結合人類 TIGIT 之第一臂及結合第二標靶之第二臂。在一些實施態樣中，異質二聚體分子包含特異性結合人類 TIGIT 之第一臂及第二臂，其中第一臂包含本文所述之抗 TIGIT 抗體。在一些實施態樣中，異質二

聚體分子包含結合人類 TIGIT 之第一臂及特異性結合第二標靶之第二臂，該第二臂包含來自抗體的抗原結合部位。在一些實施態樣中，異質二聚體分子為雙特異性抗體。在一些實施態樣中，異質二聚體分子包含結合人類 TIGIT 之第一臂及特異性結合腫瘤抗原之第二臂。在一些實施態樣中，異質二聚體分子包含結合人類 TIGIT 之第一臂及特異性結合 PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、OX-40、4-1BB 或 GITR 之第二臂。在一些實施態樣中，異質二聚體分子包含結合 TIGIT 之第一臂及第二臂，該第二臂包含免疫治療劑。在一些實施態樣中，免疫治療劑係選自由下列所組成之群組：顆粒細胞-巨噬細胞集落刺激因子 (GM-CSF)、巨噬細胞集落刺激因子 (M-CSF)、顆粒細胞集落刺激因子 (G-CSF)、介白素 2 (IL-2)、介白素 3 (IL-3)、介白素 12 (IL-12)、介白素 15 (IL-15)、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40L、抗 CD3 抗體、抗 CTLA-4 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 4-1BB 抗體、抗 GITR 抗體、抗 OX-40 抗體、抗 LAG-3 抗體和抗 TIM-3 抗體。

[0025] 在一些實施態樣中，本文所述之異質二聚體分子包含第一臂及第二臂，該第一臂包含第一 CH3 結構域且該第二臂包含第二 CH3 結構域，其中各 CH3 結構域經修飾以促進異質二聚體的形成。在一些實施態樣中，CH3 結構域係建基於靜電效應而修飾。在一些實施態樣中，CH3 結構域係利用孔中突點(knobs-into-holes)技術而

修飾。

[0026] 在一些實施態樣中，本文所述之雙特異性劑包含第一臂及第二臂，該第一臂包含第一 CH₃ 結構域，該第二臂包含第二 CH₃ 結構域，其中各 CH₃ 結構域經修飾以促進異質二聚體的形成。在一些實施態樣中，CH₃ 結構域係建基於靜電效應而修飾。在一些實施態樣中，CH₃ 結構域係利用孔中突點技術而修飾。

[0027] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，本文所述之劑特異性結合 TIGIT 且抑制 TIGIT 與脊髓灰白質病毒受體 (PVR) 結合。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且抑制或阻斷 TIGIT 與 PVR 之間的交互作用。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且抑制 TIGIT 與 PVR-L2 結合。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且抑制或阻斷 TIGIT 與 PVR-L2 之間的交互作用。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且抑制 TIGIT 與 PVR-L3 結合。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且抑制或阻斷 TIGIT 與 PVR-L3 之間的交互作用。在一些實施態樣中，該劑為 TIGIT 拮抗劑。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且抑制 TIGIT 傳訊。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且為經 TIGIT 媒介之傳訊的拮抗劑。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且抑制 TIGIT 活化。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且抑制 TIGIT 磷酸化。在一些實施態樣中，

該劑特異性結合 TIGIT 且降低 TIGIT 之細胞表面表現。

[0028] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，本文所述之劑特異性結合 TIGIT 且誘發、活化、促進、增強、提高及/或延長免疫反應。在一些實施態樣中，免疫反應係針對腫瘤或腫瘤細胞。在一些實施態樣中，免疫反應係針對病毒或病毒感染細胞。在一些實施態樣中，該劑增加細胞媒介之免疫力。在一些實施態樣中，該劑增加 T 細胞活性。在一些實施態樣中，該劑增加溶胞性 T 細胞(CTL)活性。在一些實施態樣中，該劑增加自然殺手(NK)細胞活性。在一些實施態樣中，該劑增加 IL-2 生產及/或 IL-2 生產細胞的數目。在一些實施態樣中，該劑增加 IFN- γ 生產及/或 IFN- γ 生產細胞的數目。在一些實施態樣中，該劑增強 Th1 型免疫反應。在一些實施態樣中，該劑降低 IL-4 生產及/或 IL-4 生產細胞的數目。在一些實施態樣中，該劑降低 IL-10 及/或 IL-10 生產細胞的數目。在一些實施態樣中，該劑降低 IL-6 及/或 IL-6 生產細胞的數目。在一些實施態樣中，該劑降低 IL-5 及/或 IL-5 生產細胞的數目。在一些實施態樣中，該劑降低 Th2 型免疫反應。在一些實施態樣中，該劑降低 Treg 細胞的數目。在一些實施態樣中，該劑降低 Treg 活性。在一些實施態樣中，該劑抑制及/或降低 Treg 之抑制活性。在一些實施態樣中，該劑降低 MDSC 的數目。在一些實施態樣中，該劑抑制及/或降低骨髓衍生性抑制細胞(MDSC)之抑制活性。

[0029] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，本文所述之劑特異性結合 TIGIT 且抑制腫瘤生長。在一些實施態樣中，該劑降低腫瘤生長。在一些實施態樣中，該劑降低腫瘤生長至不可檢測的大小。在一些實施態樣中，該劑誘發長期抗腫瘤免疫性。

[0030] 在另一態樣中，本發明提供包含本文所述之劑的組成物。亦提供使用包含本文所述之劑的組成物之方法。

[0031] 在另一態樣中，本發明提供本文所述之劑及醫藥上可接受的載劑之醫藥組成物。亦提供治療個體(例如人類)的癌症及/或抑制腫瘤生長之方法，其包含對個體投予有效量的包含本文所述之劑的組成物。亦提供治療個體(例如人類)的病毒感染之方法，其包含對個體投予有效量的包含本文所述之劑的組成物。

[0032] 在前述態樣，以及本文別處所述之其他態樣/實施態樣中之各者的特定實施態樣中，該劑經分離。在特定的實施態樣中，該劑實質上是純的。

[0033] 在另一態樣中，本發明提供多核苷酸，其包含編碼本文所述之劑的多核苷酸。在一些實施態樣中，多核苷酸經分離。在一些實施態樣中，本發明提供包含多核苷酸之載體，以及包含載體及/或多核苷酸之細胞。在一些實施態樣中，本發明亦提供包含或生產本文所述之劑的細胞。在一些實施態樣中，細胞為單克隆細胞系。

[0034] 在另一態樣中，本發明提供調節個體的免疫反應之方法。在一些實施態樣中，調節免疫反應之方法包含誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法。在一些實施態樣中，誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法包含投予治療有效量的本文所述之抗體、雙特異性劑或多肽。在一些實施態樣中，誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法包含投予治療有效量的本文所述之異質二聚體雙特異性劑或同質二聚體雙特異性劑。在一些實施態樣中，誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法包含投予治療有效量的本文所述之抗體，該抗體特異性結合 TIGIT。在一些實施態樣中，誘發個體中的免疫反應之方法包含投予本文所述之劑。在一些實施態樣中，活化個體的免疫反應之方法包含投予本文所述之劑。在一些實施態樣中，促進個體的免疫反應之方法包含投予本文所述之劑。在一些實施態樣中，增加個體的免疫反應之方法包含投予本文所述之劑。在一些實施態樣中，增強個體的免疫反應之方法包含投予本文所述之劑。在一些實施態樣中，延長個體的免疫反應之方法包含投予本文所述之劑。在一些實施態樣中，免疫反應係針對抗原刺激。在一些實施態樣中，抗原刺激為腫瘤或腫瘤細胞。在一些實施態樣中，抗原刺激為病原體。在一些實施態樣中，抗原刺激為病毒。在一些實施態樣中，抗原刺激為病毒感染細胞。在一些實施態樣中，免疫反應係對抗腫瘤或癌。

[0035] 在一些實施態樣中，本發明提供增加免疫細胞活性之方法。在一些實施態樣中，增加免疫細胞活性之方法包含將細胞與有效量的本文所述之劑接觸。在一些實施態樣中，免疫細胞為 T 細胞、NK 細胞、單核球、巨噬細胞、骨髓衍生性細胞、抗原呈現細胞(APC)及/或 B 細胞。在一些實施態樣中，增加個體的 NK 細胞活性之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，增加個體的 T 細胞活性之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，增加個體的 T 細胞及/或 NK 細胞活化之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，增加個體的 T 細胞反應之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，增加個體的 CTL 細胞活性之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，抑制個體的 Treg 活性之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，抑制個體的 Treg 之抑制活性之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，抑制個體的 MDSC 活性之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，抑制個體的 MDSC 之抑制活性之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。

[0036] 在一些實施態樣中，本發明提供誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法，其包含對個體投予治療有效量的結合人類 TIGIT 之劑。在一

些實施態樣中，誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法包含對個體投予治療有效量的抑制或降低 TIGIT 活性之劑。在一些實施態樣中，誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法包含對個體投予治療有效量的抑制或降低 TIGIT 傳訊之劑。在一些實施態樣中，免疫反應係對抗腫瘤細胞、腫瘤或癌。在一些實施態樣中，免疫反應係對抗病毒感染、病毒抗原或病毒感染細胞。

[0037] 在另一態樣中，本發明提供抑制腫瘤細胞或腫瘤生長之方法，其包含將腫瘤或腫瘤細胞與有效量的本文所述之劑接觸。在一些實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含將腫瘤或腫瘤細胞與有效量的結合人類 TIGIT 之劑接觸。

[0038] 在另一態樣中，本發明提供抑制個體的腫瘤生長之方法，其包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，抑制個體的腫瘤生長之方法包含對個體投予治療有效量的結合人類 TIGIT 之劑。在一些實施態樣中，抑制個體的腫瘤生長之方法包含對個體投予治療有效量的結合人類 TIGIT 之抗體。在一些實施態樣中，抑制個體的腫瘤生長之方法包含對個體投予治療有效量的結合人類 TIGIT 之雙特異性劑。在一些實施態樣中，腫瘤係選自由下列所組成之群組：結腸直腸腫瘤、結腸腫瘤、卵巢腫瘤、胰腫瘤、肺腫瘤、肝腫瘤、乳房腫瘤、腎腫瘤、前列腺腫瘤、胃腸道腫瘤、黑色素瘤、子宮頸腫瘤、

膀胱腫瘤、神經膠質母細胞瘤和頭與頸腫瘤。

[0039] 在另一態樣中，本發明提供治療個體的癌症之方法，其包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑。在一些實施態樣中，治療個體的癌症之方法包含對個體投予治療有效量的結合人類 TIGIT 之劑。在一些實施態樣中，治療個體的癌症之方法包含對個體投予治療有效量的結合人類 TIGIT 之抗體。在一些實施態樣中，治療個體的癌症之方法包含對個體投予治療有效量的結合人類 TIGIT 之雙特異性劑。在一些實施態樣中，癌症係選自由下列所組成之群組：結腸直腸癌症、卵巢癌症、胰臟癌、肺癌、肝癌、乳癌、腎臟癌、前列腺癌、胃腸道癌症、黑色素瘤、子宮頸癌症、膀胱癌症、神經膠質母細胞瘤和頭與頸癌症。

[0040] 在另一態樣中，本發明提供刺激及/或誘發個體的長期抗腫瘤免疫性之方法，其包含將治療有效量的本文所述之劑投予個體。

[0041] 在另一態樣中，本發明提供刺激個體中的保護反應之方法，其包含對個體投予治療有效量的本文所述之劑與關注之抗原組合。在一些實施態樣中，關注之抗原為腫瘤抗原。在一些實施態樣中，關注之抗原為癌細胞生物標記。在一些實施態樣中，關注之抗原為癌幹細胞標記。

[0042] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，該方法包

含對個體投予免疫反應刺激劑。在一些實施態樣中，免疫反應刺激劑係選自由下列所組成之群組：GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-3、IL-12、IL-1、IL-2、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、抗 CD3 抗體、抗 CTLA-4 抗體、抗 CD28 抗體、抗 PD-L1 抗體和抗 PD1 抗體。

[0043] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，該方法進一步包含投予至少一種額外治療劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為化療劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為抗體。在一些實施態樣中，額外治療劑為抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 CTLA4 抗體、抗 LAG-3 抗體或抗 TIM-3 抗體。在一些實施態樣中，額外治療劑為 Notch 途徑、Wnt 途徑或 RSPO/LGR 途徑之抑制劑。

[0044] 在一些實施態樣中，額外治療劑為免疫治療劑。如本文所使用的詞句“免疫治療劑”係以最廣義使用且係指直接或間接影響或調節免疫系統之物質。在一些實施態樣中，免疫治療劑為藉由誘發免疫系統組份中之任一者活化或增加免疫系統組份中之任一者的活性而直接或間接刺激免疫系統之劑。當考慮 TIGIT 結合劑為免疫治療劑時，則可將此額外的免疫治療劑視為“第二”免疫治療劑。在一些實施態樣中，第二免疫治療劑係選自由下列所組成之群組：GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-2、IL-3、IL-12、IL-15、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40 配體、抗 CD3 抗體、抗 CTLA-4 抗體、抗

CD28 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 4-1BB 抗體、抗 GITR 抗體、抗 OX-40 抗體、抗 LAG-3 抗體和抗 TIM-3 抗體。在一些實施態樣中，第二免疫治療劑為包含下列之融合蛋白：GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-2、IL-3、IL-12、IL-15、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40 配體或其片段。在一些實施態樣中，第二免疫治療劑為包含 GITRL、OX40 配體或 4-1BB 配體之至少一種複製的細胞外結構域之融合蛋白。

[0045] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，個體為人類。在一些實施態樣中，個體曾患有至少已部分移除的腫瘤或癌。

[0046] 在前述態樣及實施態樣，以及本文所述之其他態樣及實施態樣中之各者的一些實施態樣中，腫瘤或癌表現 PD-L1。在一些實施態樣中，該方法另外包含測定腫瘤或癌中的 PD-L1 表現量之步驟。在一些實施態樣中，測定 PD-L1 表現量係在以本文所述之劑治療或接觸之前進行。在一些實施態樣中，若腫瘤或癌具有上升的 PD-L1 表現量，則將本文所述之劑投予個體。在一些實施態樣中，若腫瘤或癌具有上升的 PD-L1 表現量，則將腫瘤或癌與本文所述之劑接觸。

[0047] 在此本發明的態樣或實施態樣係按照馬庫西 (Markush) 群組或其他替代群組說明，本發明不僅包含以全體列示之整個群組，並亦個別包含群組的每一成員及主

要群組中所有可能的亞群組，且亦包含群組成員中之一或多者不存在的主要群組。本發明亦展望明確排除於所主張之本發明以外的任何群組成員中之一或多者。

【圖式簡單說明】

[0048] 圖 1A 和 1B. 對小鼠 TIGIT 所產生之兔子抗體的 FACS 分析。(A)將 HEK-293T 細胞以編碼小鼠 TIGIT ECD-CD4TM-GFP(綠螢光蛋白)或人類 TIGIT ECD-CD4TM-GFP 之 cDNA 表現載體過渡性轉染。將轉染之細胞以兔子抗體培育且以流動式細胞測量術分析。特異性結合係以各 FACS 圖內存在的對角線信號表示。(B)將 HEK-293T 細胞以編碼小鼠 TIGIT-CD4TM-GFP 之 cDNA 表現載體過渡性轉染。將轉染之細胞與可溶性小鼠 PVR-Fc 融合蛋白在對小鼠 TIGIT 所產生之兔子抗體或沒有抗體的存在下培育且以流動式細胞測量術分析。特異性結合係以各 FACS 圖內存在的對角線信號表示。結合阻斷係由失去之特異性結合來證明且以 FACS 圖上的圓圈表示。

[0049] 圖 2A 和 2B. 在 TIGIT-PVR 交互作用之後的蛋白質磷酸化之西方墨點分析。將人類 Jurket T 細胞以 FLAG-標籤化之小鼠 TIGIT-GFP 穩定地轉導及將 E.G7-OVA 細胞以小鼠 PVR-GFP 穩定地轉導。(A) TIGIT 磷酸化。(B) SHP1 及 Erk1/2 磷酸化。

[0050] 圖 3. 在抗 TIGIT 抗體不存在或存在下的 TIGIT-PVR 交互作用之後的 TIGIT 磷酸化之西方墨點分

析。

[0051] 圖 4. 在抗 TIGIT 抗體不存在或存在下的 TIGIT-PVR 交互作用之後的 SHP1 及 Erk1/2 磷酸化之西方墨點分析。

[0052] 圖 5A 和 5B. 細胞激素生產之 TIGIT 抑制作用。(A)在表現 TIGIT 之 B3Z T 細胞及 B3Z T 細胞中的 IL-2 分泌。(B)在以抗 TIGIT 抗體預處理之後，在表現 TIGIT 之 B3Z T 細胞及 B3Z T 細胞中的 IL-2 分泌。

[0053] 圖 6A 和 6B. 自然殺手細胞活性之 TIGIT 抑制作用。(A)表現 TIGIT 之親代 NK-92 細胞及 NK-92 細胞之細胞毒性。(B)在以抗 TIGIT 抗體預處理之後，表現 TIGIT 之親代 NK-92 細胞及 NK-92 細胞之細胞毒性。

[0054] 圖 7A 和 7B. 以抗 TIGIT 抗體之腫瘤生長抑制。將結腸腫瘤系 CT26.WT 經皮下植入 Balb/c 小鼠中 ($n = 10$ 隻小鼠/組)。小鼠係在第 10、15、18、22、25 和 29 天以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R11、抗 TIGIT 抗體 313R12、小鼠 IgG1 對照抗體和小鼠 IgG2 對照抗體注射。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。數據係以注射後幾天內的腫瘤體積(立方毫米)顯示。(A)圖顯示各組之平均值 $\pm$ SEM。(B)以抗 TIGIT 抗體 313R12 及對照抗體之額外研究。

[0055] 圖 8. 以抗 TIGIT 抗體之腫瘤生長抑制。將結腸腫瘤系 CT26.WT 經皮下植入 Balb/c 小鼠中 ($n = 10$ 隻小鼠/組)。小鼠係在第 10、14、17 和 21 天以 0.25 毫克/小

鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12、抗 TIGIT 抗體 313R13 和小鼠 IgG2 對照抗體注射。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。數據係以注射後幾天內的腫瘤體積(立方毫米)顯示。圖顯示各組之平均值 $\pm$ SEM。

[0056] 圖 9A 至 9D. 用於 IFN- γ 、IL-2、IL-4 和 IL-10 之 ELISpot 檢定法。細胞係自以抗 TIGIT 抗體 313R12 或同型匹配之對照抗體治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之脾收獲。細胞係在 AH-1 肽的存在或不存在下培育且接著使用 ELISpot 套組分析。(A) 顯示細胞生產之 IFN- γ 的總光學密度(TOD)。(B)顯示細胞生產之 IL-2 的 TOD。(C)顯示細胞生產之 IL-4 的 TOD。(B)顯示細胞生產之 IL-10 的 TOD。

[0057] 圖 10. 在來自以抗 TIGIT 抗體治療之小鼠的脾細胞群中之自然殺手細胞活性。

[0058] 圖 11. 在來自以抗 TIGIT 抗體治療之小鼠的脾細胞群中之 Treg 活性。

[0059] 圖 12A 至 12E. 來自以抗 TIGIT 抗體治療之小鼠的脾細胞之 FACS 分析。(A)總活細胞中之 CD3+細胞百分比。(B)總活細胞中之 CD4+細胞百分比。(C)總活細胞中之 CD8+細胞百分比。(D)總 CD4+群中之 CD4+中心記憶 T 細胞百分比。(E)總 CD8+群中之 CD8+中心記憶 T 細胞百分比。

[0060] 圖 13A 至 13D. 在來自以抗 TIGIT 抗體治療之小鼠的脾細胞群中之 TIGIT 陽性或陰性 Treg 的 FACS

分析。(A)總活細胞中之 TIGIT-陽性細胞百分比。(B)總 CD4⁺細胞中之 FoxP3⁺細胞百分比(鑑別 Treg)。(C)總 Treg 細胞中之 TIGIT-陽性細胞百分比。(D)總 Treg 細胞中之 TIGIT-陰性細胞百分比。

[0061] 圖 14A 至 14D. 在來自以抗 TIGIT 抗體治療之小鼠的脾細胞群中之 MDSC 的 FACS 分析。(A)總活細胞中之 CD11b⁺細胞百分比。(B)總 CD11b⁺細胞中之 MDSC 百分比。(C)總 CD11b⁺細胞中之 G-MDSC 百分比。(D)總 CD11b⁺細胞中之 M-MDSC 百分比。

[0062] 圖 15. 以抗 TIGIT 抗體之腫瘤生長抑制。將腎癌細胞(鼠類腎腺癌)經皮下植入 Balb/c 小鼠中(n = 10 隻小鼠/組)。小鼠係在第 7、10、14、17、21 和 24 天以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12 及小鼠 IgG2 對照抗體注射。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。數據係以注射後幾天內之腫瘤體積(立方毫米)顯示。圖顯示各組之平均值± SEM。

[0063] 圖 16. 以抗 TIGIT 抗體 313R12 之腫瘤生長抑制 - 劑量研究。將鼠類結腸腫瘤系 CT26.WT 經皮下植入 Balb/c 小鼠中(n = 10 隻小鼠/組)。將小鼠以係 0.5、1、3、5、10、15 或 30 毫克/公斤之抗 TIGIT 抗體 313R12 或以對照抗體治療。小鼠係以每週兩次經腹膜內注射給藥，總共 6 次劑量。監測腫瘤生長且以電子式卡尺測量腫瘤體積。

[0064] 圖 17A 至 17F. 以抗 TIGIT 抗體 313R12 和抗

PD-L1 抗體之活體內腫瘤生長抑制。鼠類結腸腫瘤系 CT26.WT 係經皮下植入(30,000 個細胞/小鼠)Balb/c 小鼠中。將小鼠以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12、抗 PD-L1 抗體、313R12 與抗 PD-L1 抗體之組合或對照抗體治療(每組 $n = 10$)。將小鼠以每週兩次投予抗體經 3 週。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。(A)在以對照抗體治療之組內的個別小鼠之腫瘤體積。(B)在以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之組內的個別小鼠之腫瘤體積。(C)在以抗 PD-L1 抗體治療之組內的個別小鼠之腫瘤體積。(D)在以抗 TIGIT 抗體 313R12 與抗 PD-L1 抗體治療之組內的個別小鼠之腫瘤體積。(E)四個治療組之平均腫瘤生長。(F)存活率曲線。

[0065] 圖 18A 至 18E. 以抗 TIGIT 抗體 313R12 和抗 PD-1 抗體之活體內腫瘤生長抑制。將鼠類結腸腫瘤系 CT26.WT 經皮下植入(30,000 個細胞/小鼠)Balb/c 小鼠中。將小鼠以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12、抗 PD-1 抗體、313R12 與抗 PD-1 抗體之組合或對照抗體(每組 $n = 15$)治療。將小鼠以每週兩次投予抗體經 3 週。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。(A)在以對照抗體治療之組內的個別小鼠之腫瘤體積。(B)在以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之組內的個別小鼠之腫瘤體積。(C)在以抗 PD-1 抗體治療之組內的個別小鼠之腫瘤體積。(D)在以抗 TIGIT 抗體 313R12 與抗 PD-1 抗體治療之組內的個別小鼠之腫瘤體積。(E)四個治療組之

平均腫瘤生長。

[0066] 圖 19A 和 19B. 阻斷人類 TIGIT 與 PVR 結合之抗 TIGIT 抗體的 FACS 分析。(A)將 HEK-293T 細胞以編碼人類 TIGIT ECD-CD4TM-GFP(綠螢光蛋白)或人類 TIGIT ECD-CD4TM-GFP 之 cDNA 表現載體過渡性轉染。將轉染之細胞與可溶性人類 PVR-Fc 融合蛋白在對 TIGIT 所產生之 10、2 或 0.4 微克/毫升濃度之抗體(313R19、313M26 或 313M32)或沒有抗體的存在下培育且以流動式細胞測量術分析。特異性結合係以 FACS 圖內存在的對角線信號表示。結合阻斷係由 FACS 圖上以深黑色框內的失去之特異性結合來證明。(B)將 HEK-293T 細胞以編碼人類 TIGIT ECD-CD4TM-GFP(綠螢光蛋白)或人類 TIGIT ECD-CD4TM-GFP 之 cDNA 表現載體過渡性轉染。將轉染之細胞與可溶性人類 PVR-兔子 Fc 融合蛋白在對 TIGIT 所產生之 10、5、2.5 或 1.25 微克/毫升濃度之抗體(313R19 或 313M32)或在沒有抗體的存在下培育且以流動式細胞測量術分析。特異性結合係以 FACS 圖內存在的對角線信號表示。結合阻斷係由 FACS 圖上以深黑色框內的失去之特異性結合來證明。

[0067] 圖 20. 在抗 TIGIT 抗體 313R19、313M26 和 313M32 不存在或存在下的 TIGIT-PVR 交互作用之後，TIGIT 磷酸化之西方墨點分析。

[0068] 圖 21. 人類 TIGIT (SEQ ID NO: 4)、食蟹獼猴 TIGIT (SEQ ID NO: 77)及恆河猴 TIGIT (SEQ ID NO:

78)之序列比對。

[0069] 圖 22. 藉由抗 TIGIT 抗體與含有特異性胺基酸取代之變體人類 TIGIT 蛋白質結合的 FACS 分析之抗原決定區定位。hTIGIT 變體為 (1) E36K 和 I41V；(2) T51M；(3) Q62H 和 Q64H；(4) D72E；(5) S78Y 和 S80A；(6) V100M；(7) I109T 和 T119R；及(8) G135S。

[0070] 圖 23. 代表與 TIGIT 結合之 PVR 的圖形。人類 TIGIT 之結構係以球圖像顯示及 PVR 之結構係以帶狀圖像提供。包含 313M32 抗原決定區之至少一部分的胺基酸以黑球顯示。包含 313M34/10A7 抗原決定區之至少一部分的胺基酸以灰球顯示。

[0071] 圖 24A 和 24B. 在抗 TIGIT 抗體之間的競爭結合研究。(A)以 313R19 與 313M26 之競爭研究。(B)與 313M34/10A7 及 313R19 或 313M34/10A7 與 313M32 之競爭研究。

[0072] 圖 25. 以抗 TIGIT 抗體反轉經 PVR-媒介之細胞激素分泌抑制。

[0073] 圖 26. 抗體依賴性細胞毒性檢定法。

[0074] 圖 27. 在人源化小鼠模式中以抗 TIGIT 抗體 313R19 和 313M32 之腫瘤生長抑制。將人源化小鼠以源自患者之黑色素瘤腫瘤細胞經皮下注射(OMP-M9，75,000 個細胞/小鼠)。容許腫瘤生長 19 天，直到其達到約 50 立方毫米之平均體積。將攜腫瘤的小鼠隨機分組(每組 n = 8)。將攜腫瘤的小鼠以對照抗體、抗 TIGIT 抗體 313R19 或抗

TIGIT 抗體 313M32 治療。將小鼠每 5 天以 1 或 5 毫克/公斤給藥。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。

【實施方式】

本發明的詳細說明

[0075] 本發明提供調節免疫反應之新穎劑，其包括但不限於多肽、抗體和異質二聚體分子。該劑包括特異性結合 TIGIT 之多肽、抗體和異質二聚體分子及調節 TIGIT 活化及/或傳訊之劑。該劑包括抑制 TIGIT 活化及/或傳訊之多肽、抗體和異質二聚體分子，由此增強免疫反應。亦提供相關的多肽和多核苷酸，包含該劑之組成物，及製造該劑之方法。提供篩選用於調節免疫反應之劑的方法。提供使用新穎劑之方法，諸如抑制腫瘤生長之方法及/或治療癌症之方法。亦提供治療病毒感染之方法。進一步提供使用新穎劑之方法，諸如活化免疫反應之方法、刺激免疫反應之方法、促進免疫反應之方法、增強免疫反應之方法、活化自然殺手(NK)細胞及/或 T 細胞之方法、增加 NK 細胞及/或 T 細胞活性之方法、促進 NK 細胞及/或 T 細胞活性之方法、降低及/或抑制 T 細胞抑制因子之方法、及/或降低及/或抑制骨髓衍生性抑制細胞之方法。另外，可將本文所述之新穎劑用於抑制免疫反應之方法、抑制免疫反應之方法、降低 T 細胞活性之方法及/或治療自體免疫疾病之方法中。

I. 定義

[0076] 為了有助於對本發明的瞭解，將許多術語及詞句定義於下。

[0077] 如本文所使用的術語“促效劑”和“促效性”係指或說明能夠直接或間接地、實質地誘發、活化、促進、增加或增強標靶及/或途徑的生物活性之劑。本文所使用的術語“促效劑”包括部分或完全誘發、活化、促進、增加或增強蛋白質活性之任何劑。

[0078] 如本文所使用的術語“拮抗劑”和“拮抗性”係指或說明能夠直接或間接地、部分或完全地阻斷、抑制、降低或中和標靶及/或途徑的生物活性之劑。本文所使用的術語“拮抗劑”包括部分或完全地阻斷、抑制、降低或中和蛋白質活性之任何劑。

[0079] 如本文所使用的術語“調節(modulation)”和“調節(modulate)”係指生物活性之改變或變化。調節包括但不限於刺激活性或抑制活性。調節可為增加或降低活性、改變結合特徵或與蛋白質、途徑、系統或其他關注的生物標靶之活性相關聯的生物、功能或免疫性質之任何其他改變。

[0080] 如本文所使用的術語“抗體”係指辨識及透過至少一個抗原結合部位特異性結合標靶之免疫球蛋白分子。標靶可為蛋白質、多肽、肽、碳水化合物、多核苷酸、脂質或前述中任一者之組合。如本文所使用的術語包

含完整多克隆抗體、完整單克隆抗體、抗體片段(諸如 Fab、Fab'、F(ab')₂ 和 Fv 片段)、單鏈 Fv (scFv)抗體、多特異性抗體、雙特異性抗體、單特異性抗體、單價抗體、嵌合抗體、人源化抗體、人類抗體、包含抗體之抗原結合部位的融合蛋白及任何其他包含抗原結合部位的經修飾之免疫球蛋白分子，只要抗體展現所欲生物活性。抗體可為五種建基於彼等分別稱為 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 之重鏈恆定結構域的一致性之主要類別的免疫球蛋白中之任一者：IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM，或其子類別(同型)(例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2)。不同類別的免疫球蛋白具有不同且熟知的子單位結構及三維構型。抗體可為未經修飾(naked)或與其他分子共軛，該等其他分子包括但不限於毒素及放射性同位素。

[0081] 術語“抗體片段”係指完整抗體的一部分且通常係指完整抗體的抗原性決定可變區。抗體片段的實例包括但不限於 Fab、Fab'、F(ab')₂ 和 Fv 片段、線性抗體、單鏈抗體及自抗體片段所形成之多特異性抗體。如本文所使用的“抗體片段”包含抗原結合部位或抗原決定區結合部位。

[0082] 術語抗體之“可變區”係指單獨或組合之抗體輕鏈可變區或抗體重鏈可變區。重鏈可變區或輕鏈可變區通常係由以三個互補決定區(CDR)連接之四個架構區(FR)所組成，亦稱為“超級可變區”。在各鏈中的 CDR 係由架構區以緊密鄰接的方式固定在一起且與來自其他鏈

的 CDR 一起促成抗體之抗原結合部位的形成。有至少兩種用於測定 CDR 之技術：(1)建基於跨物種序列變異性之方法(亦即 Kabat 等人之 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Edition, National Institutes of Health, Bethesda MD.)，及(2)建基於抗原-抗體複合物之結晶學研究之方法(Al Lazikani 等人之 1997, *J.Mol. Biol.*, 273 : 927-948)。另外，在本技術中有時使用該兩種方法之組合來測定 CDR。

[0083] 如本文所使用的術語“單克隆抗體”係指涉入其高度特異性辨識及結合單一抗原決定子或抗原決定區之同源性抗體群。這與多克隆抗體相反，多克隆抗體通常包括辨識不同的抗原決定子之不同的抗體之混合物。術語“單克隆抗體”包含完整及全長單克隆抗體二者，以及抗體片段(例如 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv)、單鏈(scFv)抗體、包含抗體片段之融合蛋白及任何其他包含抗原結合部位的經修飾之免疫球蛋白分子。此外，“單克隆抗體”係指由任何多種技術所製成的此等抗體，包括但不限於融合瘤生產、噬菌體選擇、重組表現和基因轉殖動物。

[0084] 如本文所使用的術語“人源化抗體”係指含有最少的非人類序列之特異性免疫球蛋白鏈、嵌合性免疫球蛋白或其片段之抗體。人源化抗體通常為其中 CDR 之胺基酸殘基以來自具有所欲特異性、親和性及/或結合能力的非人類物種(例如小鼠、大鼠、兔子或倉鼠)之 CDR 的胺基酸殘基取代的人類免疫球蛋白。在一些情況中，人類

免疫球蛋白之架構可變區胺基酸殘基可以來自非人類物種之抗體中的對應胺基酸殘基取代。人源化抗體可藉由取代在架構可變區及/或經取代之非人類胺基酸殘基內的額外胺基酸殘基而進一步修飾，以進一步精進及最優化抗體特異性、親和性及/或結合能力。人源化抗體可包含可變結構域，其含有所有或實質上所有對應於非人類免疫球蛋白之 CDR，而所有或實質上所有的架構可變區為那些人類免疫球蛋白序列之架構區可變區。在一些實施態樣中，可變結構域包含人類免疫球蛋白序列之架構區。在一些實施態樣中，可變結構域包含人類免疫球蛋白共有序列之架構區。人源化抗體亦可包含至少一部分的免疫球蛋白恆定區或結構域(Fc)，通常為至少一部分的人類免疫球蛋白。

[0085] 如本文所使用的術語“人類抗體”係指由人類所生產之抗體或使用本技術中已知的技術中之任一者所製得的具有對應於由人類所生產之抗體的胺基酸序列之抗體。

[0086] 如本文所使用的術語“嵌合抗體”係指其中免疫球蛋白分子之胺基酸序列係衍生自二或更多物種之抗體。輕鏈可變區和重鏈可變區通常對應於自一種哺乳動物物種(例如小鼠、大鼠、兔子等等)所衍生之具有所欲特異性、親和性及/或結合能力之抗體的可變區，而恆定區係與自另一物種所衍生之抗體的序列為同源性。恆定區通常為人類，以避免在抗體中誘出免疫反應。

[0087] 術語“抗原決定區”與“抗原決定子”在本

文可交換使用，且係指能夠以特別的抗體辨識且特異性結合之抗原或標靶部分。當抗原或標靶為多肽時，則抗原決定區可自連續胺基酸及自以蛋白質三級折疊並列之非連續胺基酸二者形成。自連續胺基酸所形成之抗原決定區(亦稱線性抗原決定區)通常在蛋白值變性時仍被保留，而三級折疊所形成之抗原決定區(亦稱為構形抗原決定區)通常在蛋白值變性時失去。抗原決定區通常包括至少 3 個胺基酸，且更常為至少 5、6、7 或 8-10 個胺基酸於獨特的空間構形中。

[0088] 術語“選擇性結合”或“特異性結合”意指劑對抗原決定區、蛋白質或標靶分子比與替代物質(包括相關和不相關蛋白質)更頻繁、更快速、具有更長持續期間、具有更高親和性或與以上文的某些組合交互作用。在特定的實施態樣中，“特異性結合”意指例如該劑以約 0.1mM 或更小，但是更經常以小於約 1 μ M 之 K_D 與蛋白質或標靶結合。在特定的實施態樣中，“特異性結合”意指該劑以至少約 0.1 μ M 或更小，至少約 0.01 μ M 或更小，或至少約 1nM 或更小之 K_D 與標靶結合。因為在不同物種中的同源性蛋白質之間的序列一致性，所以特異性結合可包括辨識在超過一種以上的物種中之蛋白質或標靶之劑(例如小鼠 TIGIT 和人類 TIGIT)。同樣地，因為在不同的蛋白質之多肽序列的特定區域內的同源性，所以特異性結合可包括辨識超過一種以上的蛋白質或標靶之劑。應瞭解在特定的實施態樣中，特異性結合第一標靶之劑可以或不可

以特異性結合第二標靶。確切而言，“特異性結合”不一定需要(雖然可包括)排他性結合，亦即與單一標靶結合。因此，在特定的實施態樣中，該劑特異性結合超過一種以上的標靶。在特定的實施態樣中，多重標靶可以相同的抗原結合部位與劑結合。例如，抗體可在特定的情況下包含兩個相同的抗原結合部位，各者特異性結合二或更多個蛋白質之相同的抗原決定區。在特定的可替代實施態樣中，抗體可為雙特異性且包含至少兩個具有不同的特異性之抗原結合部位。述及之結合通常(但不必然)意指特異性結合。

[0089] 術語“多肽”和“肽”和“蛋白質”可於本文交換使用且係指任何長度的胺基酸之聚合物。聚合物可為線性或分支，其可包含經修飾之胺基酸，且其可經非胺基酸中斷。該等術語亦包含經天然或干預修飾之胺基酸聚合物；例如雙硫鍵形成、糖化、脂化、乙醯化、磷酸化或任何其他操控或修飾，諸如與標記之成份共軛。該定義亦包括例如含有一或多個胺基酸類似物(包括例如非天然胺基酸)以及本技術中已知的其他修飾物之多肽。應瞭解因為本發明的多肽可建基於抗體或免疫球蛋白超級家族的其他成員，所以在特定的實施態樣中，“多肽”可以單鏈或二或更多個締合鏈出現。

[0090] 術語“多核苷酸”和“核酸”和“核酸分子”可於本文交換使用且係指任何長度的核苷酸之聚合物，且包括 DNA 和 RNA。核苷酸可為去氧核糖核苷酸、

核糖核苷酸、經修飾之核苷酸或鹼及/其類似物，或任何可藉由 DNA 或 RNA 聚合酶併入聚合物中的任何受質。

[0091] 在述及的二或更多個核酸或多肽中，術語“一致”或“一致性”百分比係指當比較及比對(若必要時導入間格)二或更多個序列或子序列以達最高對應性，不考慮任何保守性胺基酸取代為序列一致性的一部分時，該二或更多個序列或子序列為相同的或具有相同的特定百分比之核苷酸或胺基酸殘基。一致性百分比可使用序列比較軟體或演算法測量，或以目視檢查測量。可用於獲得胺基酸或核苷酸序列比對之各演算法及軟體為本技術中所熟知。該等包括但不限於 BLAST、ALIGN、Megalign、BestFit、GCG Wisconsin 套裝軟體及其變化產品。在一些實施態樣中，本發明的兩個核酸或多肽實質上一致，當比較及比對以達最高對應性時，如使用序列比較演算法或目視檢查所測量，彼等具有至少 70%，至少 75%，至少 80%，至少 85%，至少 90%，且在一些實施態樣中至少 95%，96%，97%，98%，99%之核苷酸或胺基酸殘基一致性。在一些實施態樣中，一致性存在於至少約 10，至少約 20，至少約 40-60 個核苷酸或胺基酸殘基，至少約 60-80 個核苷酸或胺基酸殘基長度或介於之間的任何整數值之序列區域內。在一些實施態樣中，一致性存在於比 60-80 個核苷酸或胺基酸殘基更長的區域內，諸如至少約 80-100 個核苷酸或胺基酸殘基，且在一些實施態樣中，序列實質上與比較之全長序列一致，諸如核苷酸序列之編碼區

域。

[0092] “保守性胺基酸取代”為其中一個胺基酸殘基經具有類似側鏈的另一胺基酸殘基取代之取代。具有類似側鏈之胺基酸殘基家族已於本技術中概括定義，包括鹼性側鏈(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電之極性側鏈(例如甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸)、非極性側鏈(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)、 β -分支側鏈(例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及芳族側鏈(例如酪胺酸、苯基丙胺酸、色胺酸、組胺酸)。例如，以苯基丙胺酸取代酪胺酸被視為保守性取代。在本發明的多肽及/或抗體之序列中的保守性取代通常不廢除含有胺基酸序列之多肽或抗體結合至標靶結合部位。鑑別不消除結合之核苷酸及胺基酸保守性取代之方法為本技藝中所熟知。

[0093] 如本文所使用的術語“載體”意指建構體，其能夠在宿主細胞中遞送及經常表現一或多個關注的基因或序列。載體的實例包括但不限於病毒載體、裸 DNA 或 RNA 表現載體、質體載體、黏質體載體、噬菌體載體、與陽離子縮合劑締合之 DNA 或 RNA 表現載體，及包封在脂質體中的 DNA 或 RNA 表現載體。

[0094] 經“分離”之多肽、可溶性蛋白質、抗體、多核苷酸、載體、細胞或組成物為呈未於自然中發現的形式之多肽、可溶性蛋白質、抗體、多核苷酸、載體、細胞

或組成物。經分離之多肽、可溶性蛋白質、抗體、多核苷酸、載體、細胞或組成物包括那些經純化至使彼等不再呈於自然中發現的形式之程度者。在一些實施態樣中，經純化之多肽、可溶性蛋白質、抗體、多核苷酸、載體、細胞或組成物為實質上純的。

[0095] 如本文所使用的術語“實質上純的”係指為至少 50%純的(亦即不含污染物)，至少 90%純的，至少 95%純的，至少 98%純的或至少 99%純的材料。

[0096] 如本文所使用的術語“免疫反應”包括來自先天免疫系統及後天免疫系統二者之反應。其包括細胞媒介及/或體液之免疫反應二者。其包括但不限於 T 細胞及 B 細胞反應，以及來自免疫系統的其他細胞之反應，諸如自然殺手(NK)細胞、單核球、巨噬細胞等等。

[0097] 如本文所使用的術語“癌”和“癌性”係指或說明哺乳動物之生理病況，其中細胞群係以不受調節之細胞生長為特徵。癌的實例包括但不限於癌(carcinoma)、胚細胞瘤、肉瘤和血液性癌症，諸如淋巴瘤和白血病。

[0098] 如本文所使用的術語“腫瘤”和“贅瘤”係指任何由過度細胞生長或增生所導致的任何組織團塊，其為包括癌前病灶之良性(非癌性)或惡性(癌性)。

[0099] 如本文所使用的術語“轉移”係指癌症藉此自起源位置擴散或轉變至身體的其他區域，在新部位發展類似的癌性病灶之過程。“轉移(metastatic)或(metastasizing)之”細胞為與鄰接的細胞喪失黏著接觸且

自疾病的原發部位經由血流或淋巴移動至全身的繼發部位之細胞。

[0100] 術語“癌幹細胞”和“CSC”和“腫瘤幹細胞”和“腫瘤初始細胞”在本文可交換使用且係指來自癌或腫瘤之細胞，其：(1)具有擴大的增生能力；(2)能夠不對稱的細胞分裂以產生一或多種類型的經分化之細胞後代，其中經分化之細胞具有降低之增生或發育潛力，及(3)能夠對稱的細胞分裂以自我更新或自我維持。與無法形成腫瘤的大部分腫瘤細胞相比，該等性質賦予癌幹細胞在連續移植至適當的宿主(例如小鼠)時能夠形成或建立腫瘤或癌之能力。癌幹細胞係以混亂方式進行相對於分化的自我更新，以形成具有異常的細胞類型之腫瘤，該細胞類型可在突變發生時而隨時間改變。

[0101] 術語“癌細胞”和“腫瘤細胞”係指源自癌或腫瘤或癌前病灶之整體細胞族群，包括非致瘤細胞(其包含大部分的癌細胞群)及致瘤幹細胞(癌幹細胞)二者。如本文所使用的術語“癌細胞”或“腫瘤細胞”在僅用於指稱該等缺乏更新及分化能力之細胞時以術語“非致瘤”修飾，以區別該等腫瘤細胞與癌幹細胞。

[0102] 如本文所使用的術語“致瘤(tumorigenic)”係指癌幹細胞之功能特性，包括自我更新(引起額外的致瘤幹細胞)及增生之特性，以產生所有其他的腫瘤細胞(引起經分化及因此非致瘤腫瘤細胞)。

[0103] 如本文所使用的術語“致瘤性(tumorigenicity)

)”係指來自腫瘤之隨機細胞樣品在連續移植至適當的宿主(例如小鼠)中時形成明顯的腫瘤之能力。

[0104] 術語“個體”係指成為特定治療之接受者的任何動物(例如哺乳動物)，包括但不限於人類、非人靈長類動物、犬、貓、兔子、嚙齒動物及類似者。關於人類個體的術語“個體”及“患者”通常在本文可交換使用。

[0105] 術語“醫藥上可接受的”係指經聯邦或州政府之管理局核准或可核准或經美國藥典或其他普遍公認之藥典中用於動物(包括人類)而列示之材料。

[0106] 術語“醫藥上可接受的賦形劑、載劑或佐劑”或“可接受的醫藥載劑”係指可與本發明的至少一種劑一起投予個體之賦形劑、載劑或佐劑，且其不破壞本發明的劑之藥理活性及在以足以遞送治療效應之劑量投予時沒有毒性。那些熟習本技術領域者及美國 FDA 通常認為醫藥上可接受的賦形劑、載劑或佐劑為任何調配物的無活性成分。

[0107] 術語“有效量”或“治療有效量”或“治療效應”係指本文所述之劑、抗體、多肽、多核苷酸、小有機分子或有效“治療”個體(諸如哺乳動物)中的疾病或病症之其他藥物的量。在癌或腫瘤的例子中，劑(例如多肽或抗體)之治療有效量具有治療效應且因此可增強或激勵免疫反應、增強或激勵抗腫瘤反應、增強免疫細胞之溶胞活性、增強殺死腫瘤細胞、增加以免疫細胞殺死腫瘤細胞、減少腫瘤細胞數目、降低致瘤性、降低致瘤頻率或降

低腫瘤發生能力、減少癌幹細胞數目或頻率、減少腫瘤大小、減少癌細胞群、抑制或停止癌細胞浸潤至週邊器官中，包括例如癌擴散至軟組織和骨中、抑制且停止腫瘤或癌細胞轉移、抑制且停止腫瘤或癌細胞生長、緩解一或多種與癌相關之症狀至某種程度、降低發病率和死亡率、改進生活品質、或此等效應之組合。

[0108] 術語“治療(treating 或 treatment 或 to treat)”或“緩和(alleviating 或 to alleviate)”係指下列二者：(1)治療性措施，其治癒、減緩、減輕經診斷之病理狀況或病症症狀，及/或終止經診斷之病理狀況或病症的進展，及(2)預防性(prophylactic 或 preventative)措施，其預防或減緩靶定之病理狀況或病症的發展。因此，那些需要治療者包括那些已患有病症者、那些易患有病症者及那些欲預防其病症者。在癌或腫瘤的例子中，若患者顯示下列中之一或多者，則根據本發明的方法成功地“治療”個體：增加免疫反應、增加抗腫瘤反應、增加免疫細胞之溶胞活性、增加殺死腫瘤細胞、增加以免疫細胞殺死腫瘤細胞、減少或完全沒有癌細胞數目、減少腫瘤大小、抑制或沒有癌細胞浸潤至週邊器官中，包括癌擴散至軟組織和骨中、抑制或沒有腫瘤或癌細胞轉移、抑制或沒有癌生長、緩解一或多種與特定的癌相關之症狀、降低發病率和死亡率、改進生活品質、降低致瘤性、減少癌幹細胞數目或頻率、或此等效應之組合。

[0109] 如本發明及申請專利範圍中所使用的單數形

式“a”、“an”和“the”包括複數形式，除非上下文另外清楚地說明。

[0110] 應瞭解無論何時以文字“包含”說明實施態樣時，亦提供以“由...組成”及/或“實質上由...組成”之術語所說明的其他方面類似的實施態樣。亦應瞭解無論何時以文字“實質上由...組成”說明實施態樣時，亦提供以“由...組成”之術語所說明的其他方面類似的實施態樣。

[0111] 如本文所使用述及之“約(about 或 approximately)”某數值或參數包括(且說明)針對該數值或參數之實施態樣。例如，述及“約 X”的說明包括“X”的說明。

[0112] 如本文於詞句中所使用的術語“及/或”(諸如“A 及/或 B”)意欲包括 A 和 B 二者；A 或 B；A (單獨)；及 B (單獨)。同樣地，如詞句中所使用的術語“及/或”(諸如“A、B 及/或 C”)意欲包含下列實施態樣中之各者：A、B 和 C；A、B 或 C；A 或 C；A 或 B；B 或 C；A 和 C；A 和 B；B 和 C；A (單獨)；B (單獨)；及 C (單獨)。

II. TIGIT 結合劑

[0113] 具有 Ig 及 ITIM 結構域(TIGIT)之 T 細胞免疫受體為含有免疫球蛋白可變(IgV)結構域之第 I 型跨膜糖蛋白。TIGIT 屬於脊髓灰白質病毒受體(PVR)家族且與脊髓灰白質病毒受體(PVR；CD155)以高親和性結合及與

PVRL-2 (CD112)和 PVRL-3 (CD113)以低親和性結合。TIGIT 表現在 T 細胞上，包括調節性 T 細胞和記憶性 T 細胞，以及表現在 NK 細胞上且在原生 CD4⁺ T 細胞活化之後向上調節。小鼠 TIGIT (UniProtKB No. P86176)及人類 TIGIT (UniProtKB No. Q495A1)之全長胺基酸(aa)序列為本技術中已知且在本文分別以 SEQ ID NO: 1 及 SEQ ID NO: 4 提供。如本文所使用的述及之胺基酸位置係指全長胺基酸序列(包括信號序列)之編號。

[0114] 本發明提供特異性結合 TIGIT 之劑。該劑在本文稱為“TIGIT 結合劑”。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為抗體。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為多肽。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑結合小鼠 TIGIT。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑結合人類 TIGIT。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑結合小鼠 TIGIT 及人類 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑結合人類 TIGIT 及不結合小鼠 TIGIT。

[0115] 在一些實施態樣中，該劑結合 TIGIT 且干擾 TIGIT 與第二蛋白質之交互作用。在一些實施態樣中，該劑結合 TIGIT 且干擾 TIGIT 與 PVR 之交互作用。在一些實施態樣中，該劑結合 TIGIT 且干擾 TIGIT 與 PVRL-2 之交互作用。在一些實施態樣中，該劑結合 TIGIT 且干擾 TIGIT 與 PVRL-3 之交互作用。在一些實施態樣中，該劑特異性結合 TIGIT 且該劑阻擾 TIGIT 與 PVR 結合及/或阻擾 TIGIT 傳訊之 PVR 活化。

[0116] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為特異性結合 TIGIT 的細胞外結構域之抗體或其片段。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為特異性結合小鼠 TIGIT 的細胞外結構域之抗體或其片段。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為特異性結合人類 TIGIT 的細胞外結構域之抗體或其片段。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為特異性結合小鼠 TIGIT 及人類 TIGIT 的細胞外結構域之抗體或其片段。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為特異性結合 TIGIT 的似 Ig 結構域之抗體。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為特異性結合 TIGIT 的 IgV 結構域之抗體。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為在人類 TIGIT 的胺基酸 22-141 及/或小鼠 TIGIT 胺基酸 29-148 內結合之抗體。在一些實施態樣中，TIGIT 劑為在 SEQ ID NO：4 的胺基酸 22-141 及/或 SEQ ID NO：1 的胺基酸 29-148 內結合之抗體。在一些實施態樣中，該劑為在人類 TIGIT 的胺基酸 22-124 及/或小鼠 TIGIT 胺基酸 29-127 內結合之抗體。在一些實施態樣中，該劑係在 SEQ ID NO：4 的胺基酸 22-124 及/或 SEQ ID NO：1 的胺基酸 29-127 內結合。在特定的實施態樣中，TIGIT 劑係在 SEQ ID NO：3 或其片段內結合。在特定的實施態樣中，TIGIT 劑係在 SEQ ID NO：6 或其片段內結合。在一些實施態樣中，TIGIT 劑為在人類 TIGIT 的胺基酸 22-141 內結合之抗體。在一些實施態樣中，TIGIT 劑為在 SEQ ID NO：4 的胺基酸 22-141 內結合之抗體。在一些實施態樣中，TIGIT 劑為在人類

TIGIT 的胺基酸 50-124 內結合之抗體。在一些實施態樣中，TIGIT 劑為在 SEQ ID NO：4 的胺基酸 50-124 內結合之抗體。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑係在 SEQ ID NO：6 或其片段內結合。

[0117] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含在 SEQ ID NO：79 內的胺基酸。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含在 SEQ ID NO：80 內的胺基酸。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含在 SEQ ID NO：79 及 SEQ ID NO：80 內的胺基酸。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62 和 I109。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62 和 T119。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q64 和 I109。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q64 和 T119。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62、Q64 和 I109。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62、Q64 和 T119。在一些實施態樣中，TIGIT 結合

劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62、I109 和 T119。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q64、I109 和 T119。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 Q62、Q64、I109 和 T119。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區包含至少一種選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：4 的胺基酸 N58、E60、Q62、Q64、L65、F107、I109、H111、T117、T119、G120 和 R121。在一些實施態樣中，抗原決定區為構形抗原決定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為結合抗原決定區之抗體，該抗原決定區不包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 V100。

[0118] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)係以約 1 μ M 或更小，約 100nM 或更小，約 40nM 或更小，約 20nM 或更小，約 10nM 或更小，約 1nM 或更小，約 0.1nM 或更小，50pM 或更小，10pM 或更小或 1pM 或更小的離解常數(K_D)結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 20nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 10nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 1nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 0.5nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實

施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 0.1nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 50pM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 25pM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 10pM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 1pM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 10nM 或更小之 K_D 結合人類 TIGIT 及小鼠 TIGIT 二者。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 1nM 或更小之 K_D 結合人類 TIGIT 及小鼠 TIGIT 二者。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 0.1nM 或更小之 K_D 結合人類 TIGIT 及小鼠 TIGIT 二者。在一些實施態樣中，結合劑(例如抗體)對 TIGIT 之離解常數係使用固定在 Biacore 晶片上的包含 TIGIT 蛋白質之至少一部分的細胞外結構域之 TIGIT 融合蛋白測定之離解常數。在一些實施態樣中，結合劑(例如抗體)對 TIGIT 之離解常數係使用在 Biacore 晶片上以抗人類 IgG 抗體及可溶性 TIGIT 蛋白質所捕獲之結合劑測定之離解常數。

[0119] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含特異性結合 TIGIT 之第一抗原結合部位及特異性結合第二標靶之第二抗原結合部位。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含特異性結合 TIGIT 之第一抗原結合部位及特異性結合第二標靶之第二抗原結合部位的雙特異性劑。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 100nM 或更小之 K_D 結合

TIGIT 及第二標靶二者。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 50nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT 及第二標靶二者。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 20nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT 及第二標靶二者。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 10nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT 及第二標靶二者。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 1nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT 及第二標靶二者。在一些實施態樣中，抗原結合部位中之一者的親和性比其他的抗原結合部位的親和性更弱。例如，一個抗原結合部位之 K_D 可為約 1nM 及第二抗原結合部位之 K_D 可為約 10nM。在一些實施態樣中，在兩個抗原結合部位之間的親和性差別可為約 2 倍或更大，約 3 倍或更大，約 5 倍或更大，約 8 倍或更大，約 10 倍或更大，約 15 倍或更大，約 20 倍或更大，約 30 倍或更大，約 50 倍或更大或約 100 倍或更大。兩個抗原結合部位的親和性調節可影響雙特異性抗體之生物活性。例如，降低對 TIGIT 或第二標靶之抗原結合部位的親和性可具有所欲效應，例如降低結合劑毒性及/或增加治療指數。

[0120] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)係以約 1 μ M 或更低，約 100nM 或更低，約 40nM 或更低，約 20nM 或更低，約 10nM 或更低，約 1nM 或更低或約 0.1nM 或更低的一半最大有效濃度(EC_{50})結合 TIGIT。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 1 μ M 或更低，約 100nM 或更低，約 40nM 或更低，約 20nM 或更低，約

10nM 或更低，約 1nM 或更低或約 0.1nM 或更低的一半最大有效濃度(EC_{50})結合人類 TIGIT。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑係以約 40nM 或更低，約 20nM 或更低，約 10nM 或更低，約 1nM 或更低或約 0.1nM 或更低的 EC_{50} 結合小鼠 TIGIT 及/或人類 TIGIT。

[0121] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為抗體。在一些實施態樣中，抗體為重組抗體。在一些實施態樣中，抗體為單克隆抗體。在一些實施態樣中，抗體為嵌合抗體。在一些實施態樣中，抗體為人源化抗體。在一些實施態樣中，抗體為人類抗體。在一些實施態樣中，抗體為 IgA、IgD、IgE、IgG 或 IgM 抗體。在特定的實施態樣中，抗體為 IgG1 抗體。在特定的實施態樣中，抗體為 IgG2 抗體。在一些實施態樣中，抗體為 IgG4 抗體。在特定的實施態樣中，抗體為包含抗原結合部位之抗體片段。在一些實施態樣中，抗體為雙特異性抗體或多特異性抗體。在一些實施態樣中，抗體為單價抗體。在一些實施態樣中，抗體為單特異性抗體。在一些實施態樣中，抗體為雙價抗體。在一些實施態樣中，抗體係與細胞毒性部分共軛。在一些實施態樣中，將抗體分離。在一些實施態樣中，抗體為實質上純的。

[0122] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為多克隆抗體。多克隆抗體可以任何已知的方法製備。在一些實施態樣中，多克隆抗體係藉由以關注之抗原(例如純化之肽片段、全長重組蛋白或融合蛋白)使用多次皮下或腹膜內注

射使動物免疫(例如兔、大鼠、小鼠、山羊、驢)而製得。抗原可隨意地與載劑共軛，諸如鑰孔狀帽貝血藍素(KLH)或血清白蛋白。抗原(具有或不具有載劑蛋白質)係在無菌鹽水中稀釋且通常與佐劑(例如完全或不完全弗氏(Freund's)佐劑)組合以形成穩定的乳液。在充足的時期之後，自經免疫之動物(通常自血液或腹水)回收多克隆抗體。多克隆抗體可根據本技術中的標準方法自血清或腹水純化，該等方法包括但不限於親和性層析術、離子交換層析術、膠體電泳和透析。

[0123] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為單克隆抗體。單克隆抗體可使用本技術中已知的融合瘤方法製備。在一些實施態樣中，將小鼠、大鼠、兔子、倉鼠或其他適當的宿主動物使用融合瘤方法如上述免疫，以引誘生產特異性結合免疫抗原之抗體。在一些實施態樣中，可將淋巴細胞於試管內免疫。在一些實施態樣中，免疫抗原可為人類蛋白質或其片段。在一些實施態樣中，免疫抗原可為小鼠蛋白質或其片段。

[0124] 在免疫之後，將淋巴細胞分離且使用例如聚乙二醇與適合的骨髓瘤細胞系融合。融合瘤細胞係使用本技術中已知的專用培養基挑選且未融合之淋巴細胞及骨髓瘤細胞在挑選過程不會存活。生產尤其針對挑選之抗原的單克隆抗體之融合瘤可以多種方法鑑別，包括但不限於免疫沉澱、免疫轉漬和試管內結合檢定法(例如流動式細胞測量術、FACS、ELISA 和放射性免疫檢定法)。融合瘤可

使用標準方法於試管內培養而繁殖或於動物活體內繁殖成腹水腫瘤。單克隆抗體可根據本技術中的標準方法自培養基或腹水液體純化，該等方法包括但不限於親和性層析術、離子交換層析術、膠體電泳和透析。

[0125] 在特定的實施態樣中，單克隆抗體可使用熟習本技術領域者已知的重組 DNA 技術製得。編碼單克隆抗體之多核苷酸係自成熟 B 細胞或融合瘤細胞分離，諸如藉由使用特異性擴增編碼抗體重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸引子之 RT-PCR，且多核苷酸序列係使用標準技術測定。接著將經分離之編碼重鏈及輕鏈的多核苷酸選殖至適合的表現載體中，其在轉染至不以另外方式生產免疫球蛋白之宿主細胞時(諸如大腸桿菌、類人猿 COS 細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或骨髓瘤細胞)生產單克隆抗體。

[0126] 在特定的其他實施態樣中，重組單克隆抗體或其片段可自表現所欲物種的可變結構域或 CDR 之噬菌體展示庫分離。

[0127] 編碼單克隆抗體之多核苷酸可藉由例如使用重組 DNA 技術來修飾，以產生替代抗體。在一些實施態樣中，例如小鼠單克隆抗體之輕鏈及重鏈恆定結構域可經例如人類抗體之恆定區取代以產生嵌合抗體，或經非免疫球蛋白多肽取代以產生融合抗體。在一些實施態樣中，將恆定區截短或移除以產生所欲單克隆抗體之抗體片段。可變區的部位引導之突變形成或高密度突變形成可用於使單克隆抗體之特異性、親和性等等最優化。

[0128] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為人源化抗體。人源化抗體通常為人類免疫球蛋白，其中 CDR 之胺基酸殘基係使用熟習本技術領域者已知的方法以來自非人類物種(例如小鼠、大鼠、兔子、倉鼠等等)之具有所欲特異性、親和性及/或結合能力的 CDR 之胺基酸殘基取代。在一些實施態樣中，人類免疫球蛋白的一些架構可變區胺基酸殘基係以非人類物種之抗體中的對應胺基酸殘基取代。在一些實施態樣中，人源化抗體可藉由取代架構可變區及/或經取代之非人類殘基內的額外殘基而進一步修飾，以進一步精進及最優化抗體特異性、親和性及/或能力。人源化抗體通常包含可變結構域，其含有所有或實質上所有對應於非人類免疫球蛋白之 CDR，而所有或實質上所有的架構可變區為那些人類免疫球蛋白序列之架構區。在一些實施態樣中，架構區為人類免疫球蛋白共有序列之架構區。在一些實施態樣中，人源化抗體亦可包含至少一部分的免疫球蛋白恆定區或結構域(Fc)，通常為至少一部分的人類免疫球蛋白。在特定的實施態樣中，此等人源化抗體係用於治療，因為彼等在投予人類個體時可降低抗原性及 HAMA(人類抗小鼠抗體)反應。

[0129] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為人類抗體。人類抗體可使用本技術中已知的各種技術直接製備。在一些實施態樣中，人類抗體可自試管內免疫之不朽人類 B 淋巴細胞或自免疫個體分離之淋巴細胞產生。在任一例子中，可產生且分離用於生產針對標靶抗原之抗體的細

胞。在一些實施態樣中，人類抗體可選自噬菌體庫，其中噬菌體庫表現人類抗體。另一選擇地，噬菌體展示技術可用於自未免疫之給予體的免疫球蛋白可變結構域基因譜系(gene repertoire)於試管內生產人類抗體及抗體片段。用於產生及使用抗體噬菌體庫之技術為本技術中所熟知。一經鑑別出抗體，則可使用本技術中已知的親和性成熟策略來產生較高的親和性人類抗體，包括但不限於鏈替換(chain shuffling)及部位引導之突變形成。

[0130] 在一些實施態樣中，人類抗體可於含有人類免疫球蛋白基因座之基因轉殖小鼠中製得。一經免疫時，該等小鼠能夠生產人類抗體的全譜系，而不生產內源性免疫球蛋白。

[0131] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體。因此，本發明包含特異性辨識 TIGIT 及至少一種額外標靶之雙特異性抗體。雙特異性抗體能夠特異性辨識及結合至少兩種不同的抗原或抗原決定區。不同的抗原決定區可在相同的分子內(例如兩個抗原決定區在 TIGIT 上)或在不同的分子上(例如一個抗原決定區在 TIGIT 上及一個抗原決定區在不同的蛋白質上)。在一些實施態樣中，與個別抗體或一種以上的抗體之組合相比，雙特異性抗體具有增強的效力。在一些實施態樣中，與個別抗體或一種以上的抗體之組合相比，雙特異性抗體具有降低的毒性。那些熟習本技術領域者已知任何治療劑可具有獨特的藥物動力學(PK)(例如循環半衰期)。在一些實施態樣中，雙特異

性抗體具有使兩種活性結合劑之 PK 同步的能力，其中兩種個別的結合劑具有不同的 PK 分布。在一些實施態樣中，雙特異性抗體具有使兩種劑之作用集中在相同區域中(例如腫瘤及/或腫瘤微環境)的能力。在一些實施態樣中，雙特異性抗體具有使兩種劑之作用集中在相同標靶(例如腫瘤或腫瘤細胞)的能力。在一些實施態樣中，雙特異性抗體具有使兩種劑之作用靶定至一種以上的生物途徑或功能的能力。在一些實施態樣中，雙特異性抗體具有靶定兩種不同的細胞且使彼等更緊密在一起(例如免疫細胞及腫瘤細胞)的能力。

[0132] 在一些實施態樣中，雙特異性抗體為單克隆抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體為人源化抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體為人類抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體為 IgG1 抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體為 IgG2 抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體為 IgG4 抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體具有降低的毒性及/或副作用。在一些實施態樣中，與兩種個別抗體之混合物或成為單一劑之抗體相比，雙特異性抗體具有降低的毒性及/或副作用。在一些實施態樣中，雙特異性抗體具有增加的治療指數。在一些實施態樣中，與兩種個別抗體之混合物或成為單一劑之抗體相比，雙特異性抗體具有增加的治療指數。

[0133] 在一些實施態樣中，抗體可特異性辨識及結合第一抗原標靶(例如 TIGIT)以及第二抗原標靶，諸如在

免疫細胞上的效應子分子(例如 CD2、CD3、CD28、CTLA4、PD-1、PD-L1、CD80 或 CD86)或 Fc 受體(例如 CD64、CD32 或 CD16)，以便使細胞防禦機制聚集在表現及/或生產第一抗原標靶之細胞。在一些實施態樣中，抗體可用於引導胞毒劑至表現特別的標靶抗原之細胞。該等抗體具有抗原結合臂及結合胞毒劑或放射性核種螯合劑(諸如 EOTUBE、DPTA、DOTA 或 TETA)之臂。

[0134] 用於製備雙特異性抗體之技術為那些熟習本技術領域者已知。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含具有胺基酸修飾之重鏈恆定區，該胺基酸為兩個重鏈之間的介面之一部分。在一些實施態樣中，雙特異性抗體可使用“孔中突點”策略產生。在一些例子中，將術語“突點”和“孔”以術語“隆凸”和“腔室”取代。在一些實施態樣中，雙特異性抗體可包含不能夠在重鏈之間形成雙硫鍵聯之可變絞鏈區。在一些實施態樣中，修飾可包含導致靜電交互作用改變的胺基酸變化。在一些實施態樣中，修飾可包含導致疏水性/親水性交互作用改變的胺基酸變化。

[0135] 雙特異性抗體可為包含抗原結合部位的完整抗體或抗體片段。亦預期具有超過兩價的抗體。例如，可製備三特異性抗體。因此，在特定的實施態樣中，對 TIGIT 之抗體具有多特異性。

[0136] 在特定的實施態樣中，本文所述之抗體(或其他的多肽)可為單特異性。在特定的實施態樣中，抗體含

有的一或多個抗原結合部位中之各者能夠結合(binding)(或結合(bind))TIGIT之同源性抗原決定區。

[0137] 在特定的實施態樣中，TIGIT結合劑為抗體片段。抗體片段可具有與完整抗體不同的功能或能力；例如抗體片段可具有增加的腫瘤穿透。已知用於生產抗體片段的各種技術，包括但不限於完整抗體之蛋白水解消化。在一些實施態樣中，抗體片段包括由胃蛋白酶消化抗體分子所生產之 $F(ab')_2$ 片段。在一些實施態樣中，抗體片段包括藉由還原 $F(ab')_2$ 片段之雙硫橋所產生之 Fab 片段。在其他的實施態樣中，抗體片段包括藉由以木瓜酶及還原劑處理抗體分子所產生之 Fab 片段。在特定的實施態樣中，抗體片段係以重組方法生產。在一些實施態樣中，抗體片段包括 Fv 或單鏈 Fv (scFv) 片段。Fab、Fv 及 scFv 抗體片段可表現在大腸桿菌或其他的宿主細胞中且自大腸桿菌或其他的宿主細胞分泌，容許大量生產該等片段。在一些實施態樣中，抗體片段係自抗體噬菌體庫分離，如本文所討論。例如，可使用方法建構 Fab 表現庫，容許快速且有效的鑑別對 TIGIT 或其衍生物、片段、類似物或同源物具有所欲特異性之單克隆 Fab 片段。在一些實施態樣中，抗體片段為線性抗體片段。在特定的實施態樣中，抗體片段為單特異性或雙特異性。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為 scFv。可使用各種技術來生產對 TIGIT 具有特異性的單鏈抗體。

[0138] 在一些實施態樣中，尤其在抗體片段的例子

中，抗體經修飾以改變(例如增加或降低)其血清半衰期。這可藉由例如使抗體片段中的適當區域突變而使救援受體結合抗原決定區併入抗體片段中來達成，或藉由將抗原決定區併入肽標籤中，接著與抗體片段在末端或中間融合(例如藉由 DNA 或肽合成)來達成。

[0139] 異質共軛抗體亦屬於本發明的範圍內。異質共軛抗體係由二個共價連接之抗體所組成。經提出的此等抗體用於例如使免疫細胞靶定不希望的細胞(例如腫瘤細胞)。亦可預期以合成蛋白質化學中已知的方法於試管內製備異質共軛抗體，包括那些涉及交聯劑之方法。例如，免疫毒素可使用雙硫交換反應或藉由形成硫醚鍵來建構。適合於此目的之試劑的實例包括亞胺基硫醇鹽及甲基-4-巰基丁亞胺酸酯。

[0140] 就本發明的目的而言，應理解經修飾之抗體可包含提供抗體與標靶(亦即 TIGIT)締合的任何類型之可變區。關於此點，可變區可包含或源自可經誘發以啟動體液反應及產生對抗所欲抗原之免疫球蛋白的任何類型之哺乳動物。確切而言，經修飾之抗體的可變區可源自例如人類、鼠類、兔子、非類靈長類動物(例如食蟹獼猴、獼猴等等)或兔子。在一些實施態樣中，經修飾之免疫球蛋白的可變區及恆定區二者為人類。在其他的實施態樣中，可相容抗體的可變區(通常源自非人類來源)可經工程化或經特定設計以改進分子的結合特性或降低免疫原性。關於此點，可將本發明中有用的可變區人源化或透過輸入之胺基

酸序列的加入而以另外的方式改變。

[0141] 在特定的實施態樣中，在重鏈及輕鏈二者中的可變結構域係藉由至少部分取代一或多個 CDR 及若必要時藉由部分的架構區取代及序列修飾及/或變異而改變。雖然 CDR 可能源自與架構區起源之抗體相同類型或甚至相同亞型之抗體，但是設想 CDR 可能源自不同類型之抗體且常常源自不同物種之抗體。可能沒必要將所有的 CDR 以給予體可變區的所有 CDR 取代以轉移一個可變結構域之抗原結合能力至另一可變結構域。反而可能只需要轉移那些維持抗原結合部位活性所需之殘基。

[0142] 儘管改變可變區，那些熟習本技術領域者應理解本發明的經修飾之抗體還是包含其中恆定結構域中之一或多者的至少一部分已刪除或以其他方式改變之抗體(例如全長抗體或彼之免疫反應性片段)，以提供所欲生化特徵，諸如與包含原生或未改變之恆定區約相同的免疫原性之抗體相比時具有增加的腫瘤定位或增加的血清半衰期。在一些實施態樣中，經修飾之抗體的恆定區包含人類恆定區。與本發明可相容的恆定區修飾包含添加、刪除或取代在一或多個結構域中的一或多個胺基酸。本文所揭示的經修飾之抗體可包含對三個重鏈恆定結構域中之一或多者(CH1、CH2 或 CH3)及/或對輕鏈恆定結構域(CL)之改變或修飾。在一些實施態樣中，一或多個結構域係自經修飾之抗體的恆定區部分或全部刪除。在一些實施態樣中，經修飾之抗體包含其中整個 CH2 結構域經移除之結構域刪

除之建構體或變體(Δ CH2 建構體)。在一些實施態樣中，將刪去之恆定區結構域以短胺基酸間隔子(例如 10 個胺基酸殘基)取代，以提供通常由缺少的恆定區所賦予之某些分子柔韌性。

[0143] 在一些實施態樣中，經修飾之抗體經工程化以直接融合 CH3 結構域與抗體之絞鏈區。在其他的實施態樣中，將肽間隔子插入絞鏈區與經修飾之 CH2 及/或 CH3 結構域之間。例如，可表現其中 CH2 結構域經刪除且剩餘的 CH3 結構域(經修飾或未經修飾)以 5 至 20 個胺基酸間隔子與絞鏈區連結之建構體。可添加此間隔子以確保恆定區之調節元件維持自由且易利用，或絞鏈區維持柔韌。然而，應注意胺基酸間隔子可在一些情況中證實具有免疫原性且引誘對抗建構體之不希望的免疫反應。因此，在特定的實施態樣中，添加至建構體的任何間隔子為相對非免疫原性，以維持經修飾之抗體的所欲生物品質。

[0144] 在一些實施態樣中，經修飾之抗體可能僅具有部分刪除之恆定結構域或少數或甚至單一個胺基酸取代。例如，在 CH2 結構域之選擇區域中的單一個胺基酸突變可能足以實質地降低 Fc 結合。在一些實施態樣中，在 CH2 結構域之選擇區域中的單一個胺基酸突變可能足以實質地降低 Fc 結合且增加癌細胞定位及/或腫瘤穿透。同樣地，可能希望單純地刪除一或多個控制欲調節之特異性效應子功能(例如補體 C1q 結合)之恆定區結構域的部分。恆定區的此等部分刪除可改進經選擇之抗體特徵(血清半衰

期)，同時保留與目標恆定區結構域完整性相關聯的其他所欲功能。而且，如上所提及，所揭示之抗體的恆定區可透過一或多個胺基酸之突變或取代而修飾，以增強所得建構物的分布。關於此點，有可能阻擾由保守之結合部位所提供的活性(例如 Fc 結合)，且實質地維持經修飾之抗體的構型及免疫原性分布。在特定的實施態樣中，經修飾之抗體包含添加一或多個胺基酸至恆定區以增強所欲特徵，諸如降低或增加效應子功能或提供更多的細胞毒素或碳水化合物連接部位。

[0145] 在本技術中已知恆定區媒介數種效應子功能。例如，以補體之 C1 組份與 IgG 或 IgM 抗體(與抗原結合)之 Fc 區結合使補體系統活化。補體活化在細胞病原體之調理及溶解中具有重要性。補體活化亦刺激發炎反應，且亦可涉入自體免疫超敏反應。另外，抗體之 Fc 區可結合表現 Fc 受體(FcR)之細胞。有一些 Fc 受體對不同類別之抗體具有特異性，包括 IgG (γ 受體)、IgE (ϵ 受體)、IgA (α 受體)及 IgM (μ 受體)。抗體與細胞表面上的 Fc 受體結合觸發許多重要且多變的生物反應，包括吞噬且破壞抗體包覆粒子、清除免疫複合物、以殺手細胞溶解經抗體包覆之標靶細胞(稱為抗體依賴性細胞毒性或 ADCC)、釋放發炎媒介物、胚胎轉移及控制免疫球蛋白生產。

[0146] 在特定的實施態樣中，經修飾之抗體提供經改變之效應子功能，該功能依次影響所投予之抗體的生物

分布。例如，在一些實施態樣中，恆定區結構域之刪除或不活化(透過點突變或其他手段)可降低循環修飾之抗體的Fc受體結合。在一些實施態樣中，恆定區結構域之刪除或不活化(透過點突變或其他手段)可降低循環修飾之抗體的Fc受體結合，由此增加癌細胞定位及/或腫瘤穿透。在其他的實施態樣中，恆定區修飾增加抗體之血清半衰期。在其他的實施態樣中，恆定區修飾降低抗體之血清半衰期。在一些實施態樣中，恆定區經修飾以消除雙硫鍵聯或寡糖部分。依照本發明的恆定區修飾可使用熟知的生化或分子工程技術輕易進行。

[0147] 在特定的實施態樣中，TIGIT結合劑(其為抗體)不具有一或多個效應子功能。例如，在一些實施態樣中，抗體不具有ADCC活性及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)活性。在特定的實施態樣中，抗體不結合Fc受體及/或補體因子。在特定的實施態樣中，抗體不具有效應子功能。

[0148] 本發明另外包含實質上與本文所述之重組、單克隆、嵌合、人源化和人類抗體或彼之抗體片段同源的變體及相等物。該等變體可含有例如保守性取代突變，亦即以類似的胺基酸取代一或多個胺基酸。

[0149] 本發明提供用於生產結合TIGIT的抗體之方法，該抗體包括特異性結合TIGIT及第二標靶二者的雙特異性抗體。在一些實施態樣中，用於生產結合TIGIT的抗體之方法包含使用融合瘤技術。在一些實施態樣中，提供

用於生產結合人類 TIGIT 的抗體之方法。在一些實施態樣中，該方法包含使用包含小鼠 TIGIT 或其片段的細胞外結構域之多肽作為抗原。在一些實施態樣中，該方法包含使用包含人類 TIGIT 或其片段的細胞外結構域之多肽作為抗原。在一些實施態樣中，該方法包含使用包含小鼠 TIGIT 的胺基酸 29-148 之多肽作為抗原。在一些實施態樣中，該方法包含使用包含人類 TIGIT 的胺基酸 22-141 之多肽作為抗原。在一些實施態樣中，該方法包含使用包含 SEQ ID NO：1 的胺基酸 29-148 之多肽作為抗原。在一些實施態樣中，該方法包含使用包含 SEQ ID NO：4 的胺基酸 22-141 作為抗原。在一些實施態樣中，該方法包含使用包含 SEQ ID NO：3 或其片段之多肽作為抗原。在一些實施態樣中，該方法包含使用包含 SEQ ID NO：6 或其片段之多肽作為抗原。在一些實施態樣中，用於產生結合 TIGIT 的抗體之方法包含篩選噬菌體庫。在一些實施態樣中，用於產生結合 TIGIT 的抗體之方法包含篩選人類噬菌體庫。本發明另外提供用於鑑別結合 TIGIT 的抗體之方法。在一些實施態樣中，抗體係藉由 FACS 篩選對 TIGIT 或其片段之結合來鑑別。在一些實施態樣中，抗體係藉由使用 ELISA 篩選對 TIGIT 或其片段之結合來鑑別。在一些實施態樣中，抗體係藉由以 FACS 篩選用於阻斷 TIGIT 與 PVR 之結合來鑑別。

[0150] 在一些實施態樣中，用於產生對 TIGIT 的抗體之方法包含以包含小鼠 TIGIT 的胺基酸 29-148 之多肽

使哺乳動物免疫。在一些實施態樣中，用於產生對 TIGIT 的抗體之方法包含以包含人類 TIGIT 的胺基酸 22-141 之多肽使哺乳動物免疫。在一些實施態樣中，用於產生對 TIGIT 的抗體之方法包含以包含小鼠 TIGIT 的胺基酸 29-148 之片段(例如部分)之多肽使哺乳動物免疫。在一些實施態樣中，用於產生對 TIGIT 的抗體之方法包含以包含人類 TIGIT 的胺基酸 22-141 之片段之多肽使哺乳動物免疫。在一些實施態樣中，該方法另外包含自哺乳動物分離抗體或抗體生產細胞。在一些實施態樣中，用於產生結合 TIGIT 的單克隆抗體之方法包含：(a)以包含小鼠 TIGIT 的胺基酸 29-148 之片段之多肽使哺乳動物免疫；(b)自經免疫之哺乳動物分離抗體生產細胞；及(c)將抗體生產細胞與骨髓瘤細胞系之細胞融合，以形成融合瘤細胞。在一些實施態樣中，用於產生結合 TIGIT 的單克隆抗體之方法包含：(a)以包含人類 TIGIT 的胺基酸 22-141 之片段之多肽使哺乳動物免疫；(b)自經免疫之哺乳動物分離抗體生產細胞；及(c)將抗體生產細胞與骨髓瘤細胞系之細胞融合，以形成融合瘤細胞。在一些實施態樣中，該方法另外包含(d)選擇表現結合 TIGIT 之抗體的融合瘤細胞。在特定的實施態樣中，哺乳動物為小鼠。在一些實施態樣中，哺乳動物為大鼠。在一些實施態樣中，哺乳動物為兔子。在一些實施態樣中，抗體係使用包含小鼠 TIGIT 的胺基酸 29-148 或其片段之多肽選擇。在一些實施態樣中，抗體係使用包含人類 TIGIT 的胺基酸 22-141 或其片段之多肽選

擇。在一些實施態樣中，抗體結合人類 TIGIT 及小鼠 TIGIT 二者。在一些實施態樣中，抗體不結合小鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，抗體不結合食蟹獼猴 TIGIT。在一些實施態樣中，抗體不結合恆河猴 TIGIT。在一些實施態樣中，抗體不結合大鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，抗體結合人類 TIGIT 及不結合小鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，抗體結合人類 TIGIT 及不結合食蟹獼猴 TIGIT。在一些實施態樣中，抗體結合人類 TIGIT 及不結合恆河猴 TIGIT。在一些實施態樣中，抗體結合人類 TIGIT 及不結合大鼠 TIGIT。

[0151] 在一些實施態樣中，用於生產結合 TIGIT 的抗體之方法包含使用包含單一抗原結合部位的膜結合之異質二聚體分子鑑別抗體。在一些非限制性實施態樣中，抗體係使用國際專利公開案 WO 2011/100566 中所述之方法及多肽來鑑別。

[0152] 在一些實施態樣中，用於生產結合 TIGIT 的抗體之方法包含篩選抗體表現庫。在一些實施態樣中，抗體表現庫為噬菌體庫。在一些實施態樣中，篩選包含揀選 (panning)。在一些實施態樣中，抗體表現庫為哺乳動物細胞庫。在一些實施態樣中，抗體表現庫係使用小鼠 TIGIT 或其片段的胺基酸 29-148 來篩選。在一些實施態樣中，抗體表現庫係使用人類 TIGIT 或其片段的胺基酸 22-141 來篩選。在一些實施態樣中，以篩選鑑別之抗體結合人類 TIGIT 及小鼠 TIGIT 二者。在一些實施態樣中，以篩選鑑

別之抗體為 TIGIT 拮抗劑。

[0153] 在一些實施態樣中，以本文所述之方法產生的抗體為 TIGIT 拮抗劑。在一些實施態樣中，以本文所述之方法產生的抗體抑制 TIGIT 傳訊。在一些實施態樣中，以本文所述之方法產生的抗體抑制 TIGIT 磷酸化。

[0154] 在特定的實施態樣中，將本文所述之抗體分離。在特定的實施態樣中，本文所述之抗體為實質上純的。

[0155] 本發明的 TIGIT 結合劑(例如抗體)可以本技術中已知的任何方法檢定特異性結合。可使用的免疫檢定法包括但不限於使用下列技術的競爭性及非競爭性檢定系統：諸如 Biacore 分析、FACS 分析、免疫螢光、免疫細胞化學、西方墨點分析、放射性免疫檢定、ELISA、“三明治”式免疫檢定、免疫沉澱檢定、沉澱反應、凝膠擴散沉澱反應、免疫擴散檢定、凝集檢定、補體固定檢定、免疫放射檢定、螢光免疫檢定和蛋白質 A 免疫檢定。此等檢定為慣例程序且為本技術中所熟知(參見例如 Ausubel 等人之 Editors, 1994-present, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., New York, NY)。

[0156] 在非限制性實例中，用於抗體與人類 TIGIT 之特異性結合的篩選可使用 ELISA 測定。ELISA 包含製備抗原(例如 TIGIT 或其片段)，以抗原包覆 96 槽孔微量滴定盤之槽孔，添加與可檢測的化合物(諸如酵素受質，例如辣根過氧化酶或鹼性磷酸酶)共軛之試驗抗體至槽孔

中，培育一段時期且檢測與抗原結合之抗體的存在。在一些實施態樣中，試驗抗體不與可檢測的化合物共軛，反而將辨識抗體(例如抗 Fc 抗體)且與可檢測的化合物共軛之二級抗體添加至槽孔中。在一些實施態樣中，不以抗原包覆槽孔，反而以試驗抗體包覆槽孔，添加抗原(例如 TIGIT)至槽孔，接著添加與可檢測的化合物共軛之二級抗體。熟習本技術領域者能具有關於可修改以增加檢測信號的參數以及本技術中已知的 ELISA 之其他變數的知識。

[0157] 在另一非限制性實例中，用於抗體與人類 TIGIT 之特異性結合可使用 FACS 測定。FACS 篩選檢定法可包含產生表現成為全長蛋白質(TIGIT)或融合蛋白(例如 TIGIT-CD4TM)之抗原的建構體，將建構體轉染至細胞中，使抗原表現在細胞表面上，將試驗抗體與經轉染之細胞混合且培育一段時期。以試驗抗體結合之細胞可使用與可檢測的化合物共軛之二級抗體(例如經 PE 共軛之抗 Fc 抗體)及流動式細胞測量計鑑別。熟習本技術領域者能具有關於可修改而使檢測信號最優化的參數以及可增強篩選(例如阻斷抗體之篩選)的 FACS 之其他變數的知識。

[0158] 抗體或其他結合劑對抗原(例如 TIGIT)的結合親和性及抗體-抗原交互作用之解離速率(off-rate)可藉由競爭性結合檢定法測定。競爭性結合檢定法的一個實例為放射性免疫檢定法，其包含將經標記之抗原(例如 ³H 或 ¹²⁵I-TIGIT)或其片段或變體與關注之抗體在增量的未標記之抗原存在下培育，接著檢測與經標記之抗原結合的抗

體。抗體對抗原的親和性及結合解離速率可自斯卡查德 (Scatchard) 圖分析之數據測定。在一些實施態樣中，Biacore 動力學分析係用於測定結合抗原(例如 TIGIT)之抗體或劑之結合及解離速率。在一些實施態樣中，Biacore 動力學分析包含分析抗體與晶片表面上固定之抗原(例如 TIGIT)的結合及自晶片的解離。在一些實施態樣中，Biacore 動力學分析包含分析抗原(例如 TIGIT)與晶片表面上固定之抗體(例如抗 TIGIT 抗體)的結合及自晶片的解離。

[0159] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含抗體 313R11、313R12、313R14 或 313R19 的 CDR 中之一、二、三、四、五及/或六者(參見表 1)。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R11、313R12、313R14 或 313R19 或彼之人源化變體的 CDR 中之一或多者；313R11、313R12、313R14 或 313R19 或彼之人源化變體的 CDR 中之二或更多者；313R11、313R12、313R14 或 313R19 或彼之人源化變體的 CDR 中之三或更多者；313R11、313R12、313R14 或 313R19 或彼之人源化變體的 CDR 中之四或更多者；313R11、313R12、313R14 或 313R19 或彼之人源化變體的 CDR 中之五或更多者；或 313R11、313R12、313R14 或 313R19 或彼之人源化變體的 CDR 中之全部六者。

表1

	313R11, 313R12	313R14, 313R19
HC CDR1	GSSLSSSYMS (SEQ ID NO:7)	GFSLSSSYMS (SEQ ID NO:13)
HC CDR2	IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO:8)	IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO:8)
HC CDR3	GGYRTSGMDP (SEQ ID NO:9)	GGYRTSGMDP (SEQ ID NO:9)
LC CDR1	QASQSISSYLNW (SEQ ID NO:10)	QASQSNIYSDLAW (SEQ ID NO:14) or QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO:81)
LC CDR2	DALKLAS (SEQ ID NO:11)	RASTLAS (SEQ ID NO:15)
LC CDR3	QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO:12)	QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO:16)

[0160] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含：包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7) 或 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑另外包含：包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO：10)、QASQSNIYSDLAW (SEQ ID NO：14)或 QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO：81)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO：11)或 RASTLAS (SEQ ID NO：15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO：12)或 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO：16)之輕鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO：10)、QASQSNIYSDLAW (SEQ ID NO：14)或 QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO：81)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO：11)或 RASTLAS (SEQ ID NO：

15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12)或 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16)之輕鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：(a)包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO : 7)或 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO : 13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO : 8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9)之重鏈 CDR3；及(b)包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO : 10)、QASQSNIIYSDLAW (SEQ ID NO : 14)或 QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO : 81)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO : 11)或 RASTLAS (SEQ ID NO : 15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12)或 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16)之輕鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：(a)包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO : 7)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO : 8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9)之重鏈 CDR3；及(b)包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO : 10)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO : 11)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12)之輕鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：(a)包含 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO : 13) 之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO : 8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9)之重鏈 CDR3；及(b)包含 QASQSNIIYSDLAW (SEQ ID NO : 14)之輕鏈 CDR1、

包含 RASTLAS (SEQ ID NO : 15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16)之輕鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：(a)包含 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO : 13) 之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO : 8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9)之重鏈 CDR3；及(b)包含 QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO : 81)之輕鏈 CDR1、包含 RASTLAS (SEQ ID NO : 15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16)之輕鏈 CDR3。

[0161] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合人類 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含：(a)包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO : 7)、GFSLSSSYMS (SEQ ID NO : 13)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之重鏈 CDR1；(b)包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO : 8)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之重鏈 CDR2；(c)包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之重鏈 CDR3；(d)包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO : 10)、QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO : 14)、QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO : 81)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之輕鏈 CDR1；(e)包含 DALKLAS (SEQ ID NO : 11)、RASTLAS (SEQ ID NO : 15)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之輕鏈 CDR2；及(f)包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12)、

QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之輕鏈 CDR3。在特定的實施態樣中，胺基酸取代為保守性取代。在一些實施態樣中，取代構成人源化過程的一部份。在一些實施態樣中，取代構成種系人源化過程的一部份。

[0162] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，本發明提供 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO : 17、SEQ ID NO : 19 或 SEQ ID NO : 32 具有至少約 80%之序列一致性的重鏈可變區及/或與 SEQ ID NO : 18 或 SEQ ID NO : 20 具有至少約 80%之序列一致性的輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO : 17 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO : 19 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO : 32 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO : 18 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO : 20 具有至少約 85%，至少約

90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 具有至少約 95%之序列一致性的重鏈可變區及/或與 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 具有至少約 95%之序列一致性的輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 及/或該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 所組成且該輕鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區係由 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 所組成且該輕鏈可變區係由 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 所組成。

[0163] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：17 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：18。在特定的實施態樣

中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：17 所組成且該輕鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：18 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區係由 SEQ ID NO：17 所組成且該輕鏈可變區係由 SEQ ID NO：18 所組成。

[0164] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：19 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：20。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：19 所組成且該輕鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：20 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區係由 SEQ ID NO：19 所組成且該輕鏈可變區係由 SEQ ID NO：20 所組成。

[0165] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：32 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：20。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：32 所組成且該輕鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：20 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區係由 SEQ ID NO：32 所組成且該輕鏈可變區係由 SEQ ID NO：20 所組成。

[0166] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含：(a)與 SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：29、SEQ ID NO：34 或 SEQ ID NO：56 具有至少 90%之序列一致性的重鏈；及/或(b)與 SEQ ID NO：28 或 SEQ ID NO：30 具有至少 90%之序列一致性的輕鏈。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：(a)與 SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：29、SEQ ID NO：34 或 SEQ ID NO：56 具有至少 95%之序列一致性的重鏈；及/或(b)與 SEQ ID NO：28 或 SEQ ID NO：30 具有至少 95%之序列一致性的輕鏈。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO：26 及/或該輕鏈包含 SEQ ID NO：28。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO：27 及/或該輕鏈包含 SEQ ID NO：28。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO：29 及/或該輕鏈包含 SEQ ID NO：30。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO：34 及/或該輕鏈包含 SEQ ID NO：30。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO：56 及/或該輕鏈包含 SEQ ID NO：30。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈基本上由 SEQ ID NO：26 或 SEQ ID NO：27 所組成且該輕鏈基本上由 SEQ ID NO：28 所組成。在一些實施態樣中，

TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈基本上由 SEQ ID NO：29、SEQ ID NO：34 或 SEQ ID NO：56 所組成且該輕鏈基本上由 SEQ ID NO：30 所組成。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈基本上由 SEQ ID NO：26 所組成且該輕鏈基本上由 SEQ ID NO：28 所組成。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈係由 SEQ ID NO：27 所組成且該輕鏈係由 SEQ ID NO：28 所組成。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈係由 SEQ ID NO：29 所組成且該輕鏈係由 SEQ ID NO：30 所組成。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈係由 SEQ ID NO：34 所組成且該輕鏈係由 SEQ ID NO：30 所組成。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈係由 SEQ ID NO：56 所組成且該輕鏈係由 SEQ ID NO：30 所組成。

[0167] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R11 抗體之重鏈可變區和輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R11 抗體之可變區，其中來自 313R11 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區經親和性成熟。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R11 抗體(具有或不具有前導序列)之重鏈和輕鏈。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為 313R11 抗體。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R11 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區，其中重鏈可變區及/或輕鏈可變區經人源

化。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R11 抗體的人源化形式之重鏈可變區及/或輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG1、IgG2 或 IgG4 重鏈之一部分的 313R11 抗體之重鏈可變區。

[0168] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313R11 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313R11 之變體所組成。

[0169] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R12 抗體之重鏈可變區和輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R12 抗體之可變區，其中來自 313R12 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區經親和性成熟。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R12 抗體(具有或不具有前導序列)之重鏈和輕鏈。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為 313R12 抗體。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R12 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區，其中重鏈可變區及/或輕鏈可變區經人源化。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R12 抗體的人源化形式之重鏈可變區及/或輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG1、IgG2 或 IgG4 重鏈之一部分的 313R12 抗體之重鏈可變區。

[0170] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313R12 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313R12 之變體所

組成。

[0171] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R14 抗體之重鏈可變區和輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R14 抗體之可變區，其中來自 313R14 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區經親和性成熟。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R14 抗體(具有或不具有前導序列)之重鏈和輕鏈。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為 313R14 抗體。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R14 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區，其中重鏈可變區及/或輕鏈可變區經人源化。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R14 抗體的人源化形式之重鏈可變區及/或輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG1、IgG2 或 IgG4 重鏈之一部分的 313R14 抗體之重鏈可變區。

[0172] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313R14 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313R14 之變體所組成。

[0173] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R19 抗體之重鏈可變區和輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R19 抗體之可變區，其中來自 313R19 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區經親和性成熟。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R19 抗體(具有或不具有前導序列)之重鏈和輕鏈。在特定的實施

態樣中，TIGIT 結合劑為 313R19 抗體。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R19 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區，其中重鏈可變區及/或輕鏈可變區經人源化。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313R19 抗體的人源化形式之重鏈可變區及/或輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG1、IgG2 或 IgG4 重鏈之一部分的 313R19 抗體之重鏈可變區。

[0174] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313R19 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313R19 之變體所組成。

[0175] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含在 2015 年 5 月 27 日依照布達佩斯條約(Budapest Treaty)之條款寄存於美國菌種保存中心(ATCC)，10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA 且以 PTA-122180 編號之質體所編碼之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含在 2015 年 5 月 27 日依照布達佩斯條約之條款寄存於 ATCC，10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA 且以 PTA-122181 編號之質體所編碼之輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122180 編號之質體所編碼之重鏈可變區和由寄存於 ATCC 且以 PTA-122181 編號之質體所編碼之輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈，該重鏈包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122180 編號之質體所編碼

之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含輕鏈，該輕鏈包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122181 編號之質體所編碼之輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122180 編號之質體所編碼之重鏈可變區且該輕鏈包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122181 編號之質體所編碼之輕鏈可變區。

[0176] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含抗體 313M26 或 313M32 的 CDR 中之一、二、三、四、五及/或六者(參見表 2)。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M26 或 313M32 的 CDR 中之一或多者；313M26 或 313M32 的 CDR 中之二或更多者；313M26 或 313M32 的 CDR 中之三或更多者；313M26 或 313M32 的 CDR 中之四或更多者；313M26 或 313M32 的 CDR 中之五或更多者；或 313M26 或 313M32 的 CDR 中之全部六者。

表2

	313M26 和 313M32
HC CDR1	TSDYAWN (SEQ ID NO:57)
HC CDR2	YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO:58)
HC CDR3	ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO:59)
LC CDR1	KASQDVSTAVA (SEQ ID NO:60)
LC CDR2	SASYRYT (SEQ ID NO:61)
LC CDR3	QQHYSTP (SEQ ID NO:62)

[0177] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含：包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57)之重鏈 CDR1、包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO：58)之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO：59)之重鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑另外包含：包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO：60)之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO：61)之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO：62)之輕鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO：60)之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO：61)之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO：62)之輕鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：(a)包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57)之重鏈 CDR1、包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO：58)之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO：59)之重鏈 CDR3；及(b)包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO：60)之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO：61)之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO：62)之輕鏈 CDR3。

[0178] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合人類 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含：(a)包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之重鏈 CDR1；(b)包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO：58)或包含 1、2、3

或 4 個胺基酸取代的其變體之重鏈 CDR2；(c)包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO：59)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之重鏈 CDR3；(d)包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO：60)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之輕鏈 CDR1；(e)包含 SASYRYT (SEQ ID NO：61)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之輕鏈 CDR2；或(f)包含 QQHYSTP (SEQ ID NO：62)或包含 1、2、3 或 4 個胺基酸取代的其變體之輕鏈 CDR3。在特定的實施態樣中，胺基酸取代為保守性取代。在一些實施態樣中，在一些實施態樣中，取代構成人源化過程的一部份。在一些實施態樣中，取代構成種系人源化過程的一部份。在一些實施態樣中，取代構成結合最優化過程的一部份。

[0179] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 具有至少約 80%之序列一致性的重鏈可變區及/或與 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 具有至少 80%之序列一致性的輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO：63 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO：67 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的重鏈可變區。在特定的實施

態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO：64 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO：68 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含與 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 具有至少約 95%之序列一致性的重鏈可變區及/或與 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 具有至少約 95%之序列一致性的輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 及/或該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 所組成且該輕鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區係由 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 所組成且該輕鏈可變區係由 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 所組成。

[0180] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈

可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：63 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：64。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：63 所組成且該輕鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：64 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區係由 SEQ ID NO：63 所組成且該輕鏈可變區係由 SEQ ID NO：64 所組成。

[0181] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：67 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：68。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：67 所組成且該輕鏈可變區基本上由 SEQ ID NO：68 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區係由 SEQ ID NO：67 所組成且該輕鏈可變區係由 SEQ ID NO：68 所組成。

[0182] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含：與 SEQ ID NO：70 具有至少 90%之序列一致性的重鏈及/或與 SEQ ID NO：72 具有至少 90%之序列一致性的輕鏈。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：與 SEQ ID NO：70 具有至少 95%之序列一致性的重鏈及/或與 SEQ ID NO：72 具有至少 95%之序列一致性的輕鏈。在一

些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：包含 SEQ ID NO：70 之重鏈及/或 SEQ ID NO：72 之輕鏈。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈基本上由 SEQ ID NO：70 所組成且該輕鏈基本上由 SEQ ID NO：72 所組成。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈係由 SEQ ID NO：70 所組成且該輕鏈係由 SEQ ID NO：72 所組成。

[0183] 在特定的實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之 TIGIT 結合劑(例如抗體)，其中 TIGIT 結合劑包含：與 SEQ ID NO：82 具有至少 90%之序列一致性的重鏈及/或與 SEQ ID NO：72 具有至少 90%之序列一致性的輕鏈。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含：與 SEQ ID NO：82 具有至少 95%之序列一致性的重鏈及/或與 SEQ ID NO：72 具有至少 95%之序列一致性的輕鏈。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO：82 及/或該輕鏈包含 SEQ ID NO：72。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈基本上由 SEQ ID NO：82 所組成且該輕鏈基本上由 SEQ ID NO：72 所組成。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈係由 SEQ ID NO：82 所組成且該輕鏈係由 SEQ ID NO：72 所組成。

[0184] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M26 抗體之重鏈可變區和輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M26 抗體之可變區，其中來

自 313M26 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區經親和性成熟。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M26 抗體(具有或不具有前導序列)之重鏈和輕鏈。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為 313M26 抗體。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M26 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區，其中重鏈可變區及/或輕鏈可變區經人源化。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M26 抗體的人源化形式之重鏈可變區及/或輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG1、IgG2 或 IgG4 重鏈之一部分的 313M26 抗體之重鏈可變區。

[0185] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313M26 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313M26 之變體所組成。

[0186] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M32 抗體之重鏈可變區和輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M32 抗體之可變區，其中來自 313M32 抗體之重鏈可變區及/或輕鏈可變區經親和性成熟。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含 313M32 抗體(具有或不具有前導序列)之重鏈和輕鏈。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為 313M32 抗體。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG1、IgG2 或 IgG4 重鏈之一部分的 313M32 抗體之重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG1 重鏈之一部分的 313M32

抗體之重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG2 重鏈之一部分的 313M32 抗體之重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含成為 IgG4 重鏈之一部分的 313M32 抗體之重鏈可變區。

[0187] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313M32 所組成。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑包含、基本上由或由抗體 313M32 之變體所組成。

[0188] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含由 2015 年 8 月 11 日依照布達佩斯條約之條款寄存於美國菌種保存中心 (ATCC)，10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA 且以 PTA-122346 編號之質體所編碼之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含由 2015 年 5 月 27 日依照布達佩斯條約之條款寄存於 ATCC，10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA 且以 PTA-122347 編號之質體所編碼之輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122346 編號之質體所編碼之重鏈可變區及由寄存於 ATCC 且以 PTA-122347 編號之質體所編碼之輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含重鏈，該重鏈包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122346 編號之質體所編碼之可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含輕鏈，該輕鏈包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122347 編號之質體所編碼之可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含

重鏈和輕鏈，該重鏈包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122346 編號之質體所編碼之可變區且該輕鏈包含由寄存於 ATCC 且以 PTA-122347 編號之質體所編碼之可變區。

[0189] 本發明亦包含同質二聚體劑/分子及異質二聚體劑/分子。在一些實施態樣中，同質二聚體劑為多肽。在一些實施態樣中，異質二聚體分子為多肽。同質二聚體分子通常包含兩個相同的多肽。異質二聚體分子通常包含至少兩個不同的多肽。在一些實施態樣中，異質二聚體分子能夠結合至少兩個標靶，例如雙特異性劑。標靶可為例如在單一細胞上之兩個不同的蛋白質或在兩個單獨的細胞上之兩個不同的蛋白質。術語“臂”可於本文用於說明同質二聚體劑、異質二聚體劑及/或雙特異性劑之結構。在一些實施態樣中，各臂包含至少一個多肽。異質二聚體分子之各臂通常具有不同的功能，例如結合兩個不同的標靶。在一些實施態樣中，一個臂可包含來自抗體的抗原結合部位。在一些實施態樣中，一個臂可包含受體之結合部分。在一些實施態樣中，一個臂可包含配體。在一些實施態樣中，一個臂可包含配體之結合部分。在一些實施態樣中，同質二聚體劑包含兩個相同的臂。在一些實施態樣中，異質二聚體劑包含兩個不同的臂。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含兩個不同的臂。

[0190] 在一些實施態樣中，本發明提供 TIGIT 結合劑，其為同質二聚體分子。在一些實施態樣中，同質二聚體分子包含兩個相同的多肽。在一些實施態樣中，本發明

提供 TIGIT 結合劑，其為異質二聚體分子。在一些實施態樣中，異質二聚體分子包含至少兩個不同的多肽。在一些實施態樣中，本發明提供 TIGIT 結合劑，其為異質二聚體劑。在一些實施態樣中，本發明提供 TIGIT 結合劑，其為雙特異性劑。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體。

[0191] 在一些實施態樣中，異質二聚體劑(例如雙特異性劑)包含本文所述之 TIGIT 結合劑。在特定的實施態樣中，異質二聚體劑包含免疫反應刺激劑或其功能性片段。在一些實施態樣中，異質二聚體分子包含至少兩個功能：(i)與 TIGIT 結合，及(ii)與第二標靶結合。在一些實施態樣中，異質二聚體劑包含至少兩個功能：(i)與 TIGIT 結合，及(ii)“不結合”的功能。在特定的實施態樣中，異質二聚體分子包含第二免疫治療劑或其功能性片段。在一些實施態樣中，異質二聚體分子的一個臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑及異質二聚體分子的一個臂包含第二免疫治療劑。在一些實施態樣中，異質二聚體劑的一個臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑及異質二聚體劑的一個臂包含免疫反應刺激劑。如本文所使用的詞句“免疫反應刺激劑”係以最廣義使用且係指藉由誘發免疫系統組份中之任一者活化或增加免疫系統組份中之任一者的活性而直接或間接刺激免疫系統之物質。例如，免疫反應刺激劑可包括細胞激素，以及各種抗原，包括腫瘤抗原及源自病原體之抗原。在一些實施態樣中，第二免疫治療劑(例如免疫反應

刺激劑)包括但不限於集落刺激因子(例如顆粒細胞-巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬細胞集落刺激因子(M-CSF)、顆粒細胞集落刺激因子(G-CSF)、幹細胞因子(SCF))、介白素(例如 IL-1、IL2、IL-3、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18)、細胞激素(例如 γ -干擾素)、阻斷免疫抑制功能之抗體(例如抗 CTLA4 抗體、抗 CD28 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體)、類鐸受體(例如 TLR4、TLR7、TLR9)或 B7 家族成員(例如 CD80、CD86)。在一些實施態樣中，免疫治療劑包括但不限於促效劑抗體(例如抗 GITR 抗體、抗 OX40 抗體)或促效劑配體(例如 GITRL 或 OX40L)。

[0192] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為異質二聚體分子(例如雙特異性劑)，其包含第一 CH3 結構域及第二 CH3 結構域，各結構域經修飾以促進異質多聚體的形成。在一些實施態樣中，第一及第二 CH3 結構域係使用孔中突點技術修飾。在一些實施態樣中，第一及第二 CH3 結構域包含導致靜電交互作用改變的胺基酸變化。在一些實施態樣中，第一及第二 CH3 結構域包含導致疏水性/親水性交互作用改變的胺基酸變化。

[0193] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含選自由下列所組成之群組的重鏈恆定區：(a)第一人類 IgG1 恆定區，其中對應於 IgG1 (SEQ ID NO: 41)之位置 253 和 292 的胺基酸經麩胺酸或天冬胺酸取代，及第二人類 IgG1 恆定區，其中對應於 IgG1 (SEQ ID NO:

41)之位置 240 和 282 的胺基酸經離胺酸取代；(b)第一人類 IgG2 恆定區，其中對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 249 和 288 的胺基酸經麩胺酸或天冬胺酸取代，及第二人類 IgG1 恆定區，其中對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 236 和 278 的胺基酸經離胺酸取代；(c)第一人類 IgG3 恆定區，其中對應於 IgG3 (SEQ ID NO：43)之位置 300 和 339 的胺基酸經麩胺酸或天冬胺酸取代，及第二人類 IgG1 恆定區，其中對應於 IgG3 (SEQ ID NO：43)之位置 287 和 329 的胺基酸經離胺酸取代；及(d)第一人類 IgG4 恆定區，其中對應於 IgG4 (SEQ ID NO：44)之位置 250 和 289 的胺基酸經麩胺酸或天冬胺酸取代，及第二人類 IgG1 恆定區，其中對應於 IgG4 (SEQ ID NO：44)之位置 237 和 279 的胺基酸經離胺酸取代。

[0194] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含具有對應於 IgG1 (SEQ ID NO：41)之位置 253 和 292 上的胺基酸取代之第一人類 IgG1 恆定區，其中在對應於 IgG1 (SEQ ID NO：41)之位置 253 和 292 上的胺基酸經麩胺酸或天冬胺酸取代，及包含具有對應於 IgG1 (SEQ ID NO：41)之位置 240 和 282 上的胺基酸取代之第二人類 IgG1 恆定區，其中對應於 IgG1 (SEQ ID NO：41)之位置 240 和 282 上的胺基酸經離胺酸取代。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含具有對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 249 和 288 上的胺基酸取代之第一人類 IgG2 恆定區，其中在對應於 IgG2 (SEQ ID

NO：42)之位置 249 和 288 上的胺基酸經麩胺酸或天冬胺酸取代，及包含具有對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 236 和 278 上的胺基酸取代之第二人類 IgG2 恆定區，其中對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 236 和 278 上的胺基酸經離胺酸取代。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含具有對應於 IgG3 (SEQ ID NO：43)之位置 300 和 339 上的胺基酸取代之第一人類 IgG3 恆定區，其中在對應於 IgG3 (SEQ ID NO：43)之位置 300 和 339 上的胺基酸經麩胺酸或天冬胺酸取代，及包含具有對應於 IgG3 (SEQ ID NO：43)之位置 287 和 329 上的胺基酸取代之第二人類 IgG1 恆定區，其中對應於 IgG3 (SEQ ID NO：43)之位置 287 和 329 上的胺基酸經離胺酸取代。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含具有對應於 IgG4 (SEQ ID NO：44)之位置 250 和 289 上的胺基酸取代之第一人類 IgG4 恆定區，其中在對應於 IgG4 (SEQ ID NO：44)之位置 250 和 289 上的胺基酸經麩胺酸或天冬胺酸取代，及包含具有對應於 IgG4 (SEQ ID NO：44)之位置 237 和 279 上的胺基酸取代之第二人類 IgG4 恆定區，其中對應於 IgG4 (SEQ ID NO：44)之位置 237 和 279 上的胺基酸經離胺酸取代。

[0195] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含具有對應於 IgG1 (SEQ ID NO：41)之位置 253 和 292 上的胺基酸取代之第一人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸經麩胺酸取代，及包含具有對應於 IgG1 (SEQ ID

NO：41)之位置 240 和 282 上的胺基酸取代之第二人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸經離胺酸取代。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含具有對應於 IgG1 (SEQ ID NO：41)之位置 253 和 292 上的胺基酸取代之第一人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸經天冬胺酸取代，及包含具有對應於 IgG1 (SEQ ID NO：41)之位置 240 和 282 上的胺基酸取代之第二人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸經離胺酸取代。

[0196] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含具有對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 249 和 288 上的胺基酸取代之第一人類 IgG2 恆定區，其中胺基酸經麩胺酸取代，及包含具有對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 236 和 278 上的胺基酸取代之第二人類 IgG2 恆定區，其中胺基酸經離胺酸取代。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含具有對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 249 和 288 上的胺基酸取代之第一人類 IgG2 恆定區，其中胺基酸經天冬胺酸取代，及包含具有對應於 IgG2 (SEQ ID NO：42)之位置 236 和 278 上的胺基酸取代之第二人類 IgG2 恆定區，其中胺基酸經離胺酸取代。

[0197] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含 SEQ ID NO：45 之重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：46 之重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合

劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：47 之重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：48 之重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：45 之第一重鏈恆定區及 SEQ ID NO：46 之第二重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：47 之第一重鏈恆定區及 SEQ ID NO：48 之第二重鏈恆定區。

[0198] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含 SEQ ID NO：49 之重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：50 之重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：51 之重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：52 之重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：49 之第一重鏈恆定區及 SEQ ID NO：50 之第二重鏈恆定區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含 SEQ ID NO：51 之第一重鏈恆定區及 SEQ ID NO：52 之第二重鏈恆定區。

[0199] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位及結合

第二標靶之第二抗原結合部位。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含：特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位，其中第一抗原結合部位包含：包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)或 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含

IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3。在

一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含：特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位，其中第一抗原結合部位包含：包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)之

重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之

重鏈 CDR3。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含：特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位，其中第一抗原結合部位包含：包含 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含

IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3。在

一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含：特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位，其中第一抗原結合部位包含(a)包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)或

GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及

包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3；及(b)

第二抗原結合部位，其中第一抗原結合部位及第二抗原結合部位包含共同的(亦即相同的)輕鏈。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含：特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位，其中第一抗原結合部位包含 (a) 包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO : 7) 或 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO : 13) 之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO : 8) 之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9) 之重鏈 CDR3；包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO : 10)、QASQSNIYSDLAW (SEQ ID NO : 14) 或 QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO : 81) 之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO : 11) 或 RASTLAS (SEQ ID NO : 15) 之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12) 或 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16) 之輕鏈 CDR3；及 (b) 第二抗原結合部位。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一抗原結合部位，該第一抗原結合部位包含：包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO : 10)、QASQSNIYSDLAW (SEQ ID NO : 14) 或 QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO : 81) 之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO : 11) 或 RASTLAS (SEQ ID NO : 15) 之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12) 或 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16) 之輕鏈 CDR3。

[0200] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含與 SEQ ID NO : 17、SEQ ID NO : 19 或 SEQ

ID NO：32 具有至少約 80%之序列一致性的第一重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含與 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的第一重鏈可變區。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含與 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 具有至少約 80%之序列一致性的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含與 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一重鏈可變區之雙特異性抗體，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO：17。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一重鏈可變區之雙特異性抗體，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO：19。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一重鏈可變區之雙特異性抗體，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO：32。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一輕鏈可變區之雙特異性抗體，該第一輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：18。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一輕鏈可變區之雙特異性抗體，該第一輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：20。

[0201] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含第一重鏈可變區和第一重鏈恆定區，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO：17 且該第一重鏈恆定區包

含 SEQ ID NO : 45、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 47、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 49、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 51 或 SEQ ID NO : 52。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含第一重鏈可變區和第一重鏈恆定區，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO : 19 且該第一重鏈恆定區包含 SEQ ID NO : 45、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 47、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 49、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 51 或 SEQ ID NO : 52。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含第一重鏈可變區和第一重鏈恆定區，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO : 32 且該第一重鏈恆定區包含 SEQ ID NO : 45、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 47、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 49、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 51 或 SEQ ID NO : 52。

[0202] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位及結合第二標靶之第二抗原結合部位。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含：特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位，其中第一抗原結合部位包含：包含 TSDYAWN (SEQ ID NO : 57)之重鏈 CDR1、包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO : 58)之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO : 59)之重鏈 CDR3。

在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含：特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位，其中第一抗原結合部位包含(a)包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57)之重鏈 CDR1、包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO：58)之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO：59)之重鏈 CDR3；及(b)第二抗原結合部位，其中第一抗原結合部位及第二抗原結合部位包含共同的(亦即相同的)輕鏈。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含：特異性結合人類 TIGIT 之第一抗原結合部位，其中第一抗原結合部位包含(a)包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57)之重鏈 CDR1、包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO：58)之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO：59)之重鏈 CDR3；包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO：60)之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO：61)之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO：62)之輕鏈 CDR3；及(b)第二抗原結合部位。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一抗原結合部位，其包含：包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO：60)之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO：61)之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO：62)之輕鏈 CDR3。

[0203] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含與 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 具有至少約 80%之序列一致性的第一重鏈可變區。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含與 SEQ

ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的第一重鏈可變區。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含與 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 具有至少約 80%之序列一致性的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含與 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一重鏈可變區之雙特異性抗體，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO：63。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一重鏈可變區之雙特異性抗體，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO：67。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一輕鏈可變區雙之特異性抗體，該第一輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：64。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為包含第一輕鏈可變區之雙特異性抗體，該第一輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：68。

[0204] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含第一重鏈可變區和第一重鏈恆定區，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO：63 且該第一重鏈恆定區包含 SEQ ID NO：45、SEQ ID NO：46、SEQ ID NO：47、SEQ ID NO：48、SEQ ID NO：49、SEQ ID NO：50、SEQ ID NO：51 或 SEQ ID NO：52。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含第一重鏈可變區和第一重鏈恆定區，該第一重鏈可變區包含 SEQ ID NO：67

之第一重鏈可變區且該第一重鏈恆定區包含 SEQ ID NO : 45、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 47、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 49、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 51 或 SEQ ID NO : 52。

[0205] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為特異性結合人類 TIGIT 及第二標靶之雙特異性抗體。在一些實施態樣中，第二標靶為腫瘤抗原。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含本文所述之 TIGIT 結合劑及包含特異性結合腫瘤抗原之抗體的第二多肽。對腫瘤抗原具有結合特異性之雙特異性抗體可用於引導 TIGIT 結合劑至腫瘤。這可有用於誘發及/或增強腫瘤微環境附近或內的腫瘤反應。在一些實施態樣中，雙特異性抗體可用於誘發或增強腫瘤浸潤免疫細胞之活性。在一些實施態樣中，雙特異性抗體可用於誘發或增強腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)之活性。在一些實施態樣中，雙特異性抗體可用於抑制或降低 Treg 細胞活性。在一些實施態樣中，雙特異性抗體可用於抑制或降低 MSDC 活性。

[0206] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其中第一標靶為 TIGIT 及第二標靶為對免疫反應細胞。在一些實施態樣中，第二標靶為 T 細胞、NK 細胞、B 細胞、巨噬細胞、樹狀細胞或骨髓細胞。在一些實施態樣中，第二標靶為 PD-1、PD-L1、CTLA4、TIM-3、LAG-3、GITR、OX-40、GITRL 或 OX-40L。在一些實施態樣中，第二標靶為 CD28 或 4-1BB。

[0207] 在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 PD-1 之抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 PD-L1 之抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 GITR 之抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 OX-40 之抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 CD40 之抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 CTLA4 之抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 CD28 之抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 GITRL 之抗體。在一些實施態樣中，雙特異性抗體包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含特異性結合 OX-40L 之抗體。

[0208] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性

抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313R11 之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313R12 之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313R14 之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313R19 或 313R20 之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313R11 或 313R12 之輕鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313R14、313R19 或 313R20 之輕鏈可變區。

[0209] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313M26 之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313M26 之輕鏈可變區。

[0210] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313M32 之重鏈可變區。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性抗體，其包含來自抗 TIGIT 抗體 313M32 之輕鏈可變區。

[0211] 在一些實施態樣中，雙特異性劑包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含多肽，該多肽包含特異性結合 GITR 之 GITRL。在一些實施態樣中，第二臂包含多肽，該多肽包含 GITRL 之至少一個複製的細胞外結構域。在一些實施態樣中，雙

特異性劑包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含多肽，該多肽包含特異性結合 OX-40 之 OX-40L。在一些實施態樣中，第二臂包含多肽，該多肽包含 OX-40L 之至少一個複製的細胞外結構域。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含多肽，該多肽包含特異性結合 CD40 之 CD40L。在一些實施態樣中，第二臂包含多肽，該多肽包含 CD40L 之至少一個複製的細胞外結構域。在一些實施態樣中，雙特異性劑包含第一臂和第二臂，該第一臂包含本文所述之 TIGIT 結合劑且該第二臂包含多肽，該多肽包含特異性結合 4-1BB 之 4-1BB 配體。在一些實施態樣中，第二臂包含多肽，該多肽包含 4-1BB 配體之至少一個複製的細胞外結構域。

[0212] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其以約 50nM 或更小，約 25nM 或更小，約 10nM 或更小，約 1nM 或更小或約 0.1nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其以約 50nM 或更小，約 25nM 或更小，約 10nM 或更小，約 1nM 或更小或約 0.1nM 或更小之 K_D 結合第二標靶。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其以約 50nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT 及以約 50nM 或更小之 K_D 結合第二標靶。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其以約 25nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT 及

以約 25nM 或更小之 K_D 結合第二標靶。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其以約 10nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT 及以約 10nM 或更小之 K_D 結合第二標靶。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其以約 1nM 或更小之 K_D 結合 TIGIT 及以約 1nM 或更小之 K_D 結合第二標靶。

[0213] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為雙特異性劑，其包含一個具有結合親和性比第二抗原結合部位的結合親和性更弱的抗原結合部位。例如，在一些實施態樣中，雙特異性劑可以從約 0.1nM 至 1nM 之範圍內的 K_D 結合 TIGIT 及可以從約 1nM 至 10nM 之範圍內的 K_D 結合第二標靶。或者，雙特異性劑可以從約 1nM 至 10nM 之範圍內的 K_D 結合 TIGIT 及可以從約 0.1nM 至 1nM 之範圍內的 K_D 結合第二標靶。在一些實施態樣中，雙特異性劑可以從約 0.1nM 至 1nM 之範圍內的 K_D 結合 TIGIT 及可以從約 1nM 至 10nM 之範圍內的 K_D 結合第二標靶。或者，雙特異性劑可以從約 1nM 至 10nM 之範圍內的 K_D 結合 TIGIT 及可以從約 0.1nM 至 1nM 之範圍內的 K_D 結合第二標靶。在一些實施態樣中，在兩個抗原結合部位之間的親和性差異可為約 2 倍或更高，約 3 倍或更高，約 5 倍或更高，約 8 倍或更高，約 10 倍或更高，約 15 倍或更高，約 30 倍或更高，約 50 倍或更高或約 100 倍或更高。在一些實施態樣中，將用於 TIGIT 的抗原結合部位之至少一個 CDR 中的至少一個胺基酸殘基以不同的胺基酸取代，使得

TIGIT 結合部位之親和性改變。在一些實施態樣中，使 TIGIT 結合部位之親和性增加。在一些實施態樣中，使 TIGIT 結合部位之親和性降低。在一些實施態樣中，將用於第二標靶抗原結合部位之至少一個 CDR 中的至少一個胺基酸殘基以不同的胺基酸取代，使得第二抗原結合部位之親和性改變。在一些實施態樣中，使第二抗原結合部位之親和性增加。在一些實施態樣中，使第二抗原結合部位之親和性降低。在一些實施態樣中，使 TIGIT 及第二抗原結合部位二者之親和性改變。

[0214] 本發明提供特異性結合 TIGIT 之多肽，其包括但不限於抗體。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合小鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合小鼠 TIGIT 及人類 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT 及不結合小鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT 及不結合大鼠 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT 及不結合兔子 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT 及不結合狢猴 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT 及不結合狗 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT 及不結合豬 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT 及不結合食蟹獼猴 TIGIT。在一些實施態樣中，多肽結合人類 TIGIT 及不結合恆河猴 TIGIT。

[0215] 在特定的實施態樣中，多肽包含抗體

313R11、313R12、313R14 或 313R19 的 CDR 中之一、二、三、四、五及/或六者(參見本文表 1)。抗體 313R20 包含與抗體 313R19 相同的 CDR 及重鏈和輕鏈可變結構域，但是 313R20 包含 IgG4 型式。在一些實施態樣中，多肽包含每一 CDR 具有至多 4 個(亦即 0、1、2、3 或 4)胺基酸取代之 CDR。在特定的實施態樣中，重鏈 CDR 容納在重鏈可變區內。在特定的實施態樣中，輕鏈 CDR 容納在輕鏈可變區內。

[0216] 在一些實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之多肽，其中多肽包含與 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 具有至少約 80%之序列一致性的胺基酸序列及/或與 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 具有至少約 80%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：19 或 SEQ ID NO：32 具有至少約 95%之序列一致性的胺基酸序列及/或與 SEQ ID NO：18 或 SEQ ID NO：20 具有至少約 95%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：

17 之胺基酸序列及/或包含 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含包含：包含 SEQ ID NO：19 之胺基酸序列及/或包含 SEQ ID NO 之胺基酸序列：20。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：32 之胺基酸序列及/或包含 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列。

[0217] 在一些實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：19、SEQ ID NO：20 及/或 SEQ ID NO：32 之胺基酸序列。如本文所定義，多肽可以單鏈或二或更多個締合鏈出現。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：17 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：18 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：19 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：32 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：20 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含基本上由 SEQ ID NO：17 所組成之胺基酸序列及基本上由 SEQ ID NO：18 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含基本上由 SEQ ID NO：19 所組成之胺基酸序列及基本上由 SEQ ID NO：20 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含基本上由 SEQ ID NO：32 所組成之胺基酸序列及基本上由 SEQ ID NO：20 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含基本上由 SEQ ID NO：17 所組成之

胺基酸序列及基本上由 SEQ ID NO：18 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含基本上由 SEQ ID NO：19 所組成之胺基酸序列及基本上由 SEQ ID NO：20 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含基本上由 SEQ ID NO：32 所組成之胺基酸序列及基本上由 SEQ ID NO：20 所組成之胺基酸序列。

[0218] 在一些實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：21、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：23、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：25、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：29、SEQ ID NO：30、SEQ ID NO：33、SEQ ID NO：34、SEQ ID NO：55 及/或 SEQ ID NO：56 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：21 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：23 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：22 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：23 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：24 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：33 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：55 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：25 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：26 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列。在特定的實施態樣

中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：27 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：28 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：29 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：30 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：34 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：30 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：56 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：30 之胺基酸序列。

[0219] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑包含多肽，其包含選自由下列所組成之群組的序列：SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：19、SEQ ID NO：20、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：29、SEQ ID NO：30、SEQ ID NO：32、SEQ ID NO：34 和 SEQ ID NO：56。

[0220] 在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：21 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：23 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：22 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：23 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：24 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：25 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：33 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：25 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包

含由 SEQ ID NO：55 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：25 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：26 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：28 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：27 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：28 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：29 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：30 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：34 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：30 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含由 SEQ ID NO：56 所組成之胺基酸序列及包含由 SEQ ID NO：30 所組成之胺基酸序列。

[0221] 在特定的實施態樣中，多肽包含抗體 313M26 或 313M32 的 CDR 中之一、二、三、四、五及/或六者(參見本文表 2)。在一些實施態樣中，多肽包含每一 CDR 具有至多 4 個(亦即 0、1、2、3 或 4)胺基酸取代之 CDR。在特定的實施態樣中，重鏈 CDR 容納在重鏈可變區內。在特定的實施態樣中，輕鏈 CDR 容納在輕鏈可變區內。

[0222] 在一些實施態樣中，本發明提供特異性結合 TIGIT 之多肽，其中多肽包含與 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 具有至少約 80%之序列一致性的胺基酸序列及/或與 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 具有至少約 80%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽

包含與 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 具有至少約 85%，至少約 90%，至少約 95%，至少約 97%或至少約 99%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含與 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：167 具有至少約 95%之序列一致性的胺基酸序列及/或與 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 具有至少約 95%之序列一致性的胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：63 之胺基酸序列及/或包含 SEQ ID NO：64 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：67 之胺基酸序列及/或包含 SEQ ID NO：68 之胺基酸序列。

[0223] 在一些實施態樣中，多肽包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：63、SEQ ID NO：64、SEQ ID NO：67、SEQ ID NO：68、SEQ ID NO：69、SEQ ID NO：70、SEQ ID NO：71、SEQ ID NO：72 及/或 SEQ ID NO：82。如本文所定義，多肽可以單鏈或二或更多個締合鏈出現。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：63 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：64 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：67 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：68 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包

含：包含 SEQ ID NO：69 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：71 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：70 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：72 之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含：包含 SEQ ID NO：82 之胺基酸序列及包含 SEQ ID NO：72 之胺基酸序列。

[0224] 在特定的實施態樣中，多肽包含由 SEQ ID NO：63 所組成之胺基酸序列及由 SEQ ID NO：64 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含由 SEQ ID NO：67 所組成之胺基酸序列及由 SEQ ID NO：68 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含由 SEQ ID NO：69 所組成之胺基酸序列及由 SEQ ID NO：71 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含由 SEQ ID NO：70 所組成之胺基酸序列及由 SEQ ID NO：72 所組成之胺基酸序列。在特定的實施態樣中，多肽包含由 SEQ ID NO：82 所組成之胺基酸序列及由 SEQ ID NO：72 所組成之胺基酸序列。

[0225] 許多蛋白質(包括抗體)含有引導蛋白質運送至不同地區的信號序列。信號序列(又稱信號肽或前導序列)通常位於新生多肽之 N 端。該等信號序列靶定多肽至內質網且將蛋白質分類至彼等的目的地，例如至胞器的內部空間、至細胞內膜、至細胞外膜或經由分泌至細胞外部。在蛋白質運送至內質網之後，大部分的信號序列係藉由信號肽酶與蛋白質切割。自多肽切割信號序列通常發生在胺基

酸序列的特定部位，且取決於信號序列內的胺基酸殘基而定。雖然通常有一個特定的切割部位，但是可藉由信號肽酶辨識及/或使用一個以上之切割部位，導致多肽的不均勻 N 端。例如，使用在信號序列內不同的切割部位可導致以不同的 N 端胺基酸表現之多肽。因此，在一些實施態樣中，如本文所述之多肽可包含具有不同的 N 端之多肽的混合物。在一些實施態樣中，N 端的長度相差 1、2、3、4 或 5 個胺基酸。在一些實施態樣中，多肽為實質上均勻的，亦即多肽具有相同的 N 端。在一些實施態樣中，與“原生”或“親代”信號序列，多肽的信號序列包含一或多個(例如一、二、三、四、五、六、七、八、九、十等等)胺基酸取代及/或刪除。在一些實施態樣中，多肽之信號序列包含容許一個切割部位佔優勢的胺基酸取代及/或刪除，由此導致具有一個 N 端之實質上均勻的多肽。在一些實施態樣中，多肽之信號序列影響多肽的表現程度，例如增加表現或降低表現。

[0226] 在特定的實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合。在一些實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含：(a)包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)或 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3；及(b)包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO：10)、

QASQSNIYSDLAW (SEQ ID NO : 14)或 QASQNIYSDLAW (SEQ ID NO : 81)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO : 11)或 RASTLAS (SEQ ID NO : 15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12)或 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16)之輕鏈 CDR3。

[0227] 在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含：(a)包含 SEQ ID NO : 17、SEQ ID NO : 19 或 SEQ ID NO : 32 之重鏈可變區；及(b)包含 SEQ ID NO : 18 或 SEQ ID NO : 20 之輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO : 17 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO : 18。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO : 19 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO : 20。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO : 32 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO : 20。

[0228] 在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含：包含 SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 27、SEQ ID NO : 29、SEQ ID NO : 34 或 SEQ ID NO : 56 之重鏈及包含 SEQ ID

NO: 28 或 SEQ ID NO: 30 之輕鏈。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 26 且該輕鏈包含 SEQ ID NO: 28。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 27 且該輕鏈包含 SEQ ID NO: 28。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 29 且該輕鏈包含 SEQ ID NO: 30。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 34 且該輕鏈包含 SEQ ID NO: 30。在一些實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO: 56 且該輕鏈包含 SEQ ID NO: 30。

[0229] 在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R11 競爭與 TIGIT 特異性結合。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R12 競爭與 TIGIT 特異性結合。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R14 競爭與人類 TIGIT 之特異性結合。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R19 競爭與人類 TIGIT 之特異性結合。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R20 競爭與人類 TIGIT 之特異性結合。

[0230] 在一些實施態樣中，抗體與參考抗體競爭與

TIGIT 特異性結合，其中參考抗體為抗體 313R11。在一些實施態樣中，抗體與參考抗體競爭與 TIGIT 特異性結合，其中參考抗體為抗體 313R12。在一些實施態樣中，抗體與參考抗體競爭與 TIGIT 特異性結合，其中參考抗體為抗體 313R14。在一些實施態樣中，抗體與參考抗體競爭與 TIGIT 特異性結合，其中參考抗體為抗體 313R19。在一些實施態樣中，抗體與參考抗體競爭與 TIGIT 特異性結合，其中參考抗體為抗體 313R20。

[0231] 在特定的實施態樣中，抗體與本發明的 TIGIT 結合劑結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R11 結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R12 結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R14 結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R19 結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313R20 結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。

[0232] 在另一實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與本發明的 TIGIT 結合劑結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。在一些實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與抗體 313R11 結合之 TIGIT 的抗原決定區重

疊。在另一實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與抗體 313R12 結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。在一些實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與抗體 313R14 結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。在特定的實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與抗體 313R19 結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。在特定的實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與抗體 313R20 結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。

[0233] 在特定的實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合。在一些實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含：(a)包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57) 之重鏈 CDR1、包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO：58) 之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO：59) 之重鏈 CDR3；及 (b) 包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO：60) 之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO：61) 之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO：62) 之輕鏈 CDR3。

[0234] 在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含 (a) 包含 SEQ ID NO：63 或 SEQ ID NO：67 之重鏈可變區，及 (b) 包含 SEQ ID NO：64 或 SEQ ID NO：68 之輕鏈可變區。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變

區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：63 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：64。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：167 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：68。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO：70 且該輕鏈包含 SEQ ID NO：72。在特定的實施態樣中，抗體與 TIGIT 結合劑競爭與 TIGIT 特異性結合，該 TIGIT 結合劑包含重鏈和輕鏈，該重鏈包含 SEQ ID NO：82 且該輕鏈包含 SEQ ID NO：72。

[0235] 在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313M26 競爭與 TIGIT 特異性結合。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313M32 競爭與 TIGIT 特異性結合。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313M32 競爭與人類 TIGIT 之特異性結合。在一些實施態樣中，抗體與參考抗體競爭與 TIGIT 特異性結合，其中參考抗體為抗體 313M26。在一些實施態樣中，抗體與參考抗體競爭與 TIGIT 特異性結合，其中參考抗體為抗體 313M32。在一些實施態樣中，抗體與參考抗體競爭與人類 TIGIT 之特異性結合，其中參考抗體為抗體 313M32。

[0236] 在特定的實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。在特定的實施態樣中，抗體與抗體

313M26 結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313M32 結合 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。在特定的實施態樣中，抗體與抗體 313M32 結合人類 TIGIT 之相同的抗原決定區或基本上相同的抗原決定區。

[0237] 在另一實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與本文所述之 TIGIT 結合劑結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。在一些實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與抗體 313M26 結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。在另一實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與抗體 313M32 結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。在另一實施態樣中，抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，其與抗體 313M32 結合之人類 TIGIT 的抗原決定區重疊。

[0238] 在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含在 SEQ ID NO：79 內的胺基酸。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含在 SEQ ID NO：80 內的胺基酸。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含在 SEQ ID NO：79 及 SEQ ID NO：80 內的胺基酸。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62 和 I109。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗

原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62 和 T119。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q64 和 I109。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q64 和 T119。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62、Q64 和 I109。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62、Q64 和 T119。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62、I109 和 T119。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q64、I109 和 T119。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含 SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62、Q64、I109 和 T119。在一些實施態樣中，抗體與本文所述之 TIGIT 結合劑競爭與抗原決定區之結合，該抗原決定區包含至少一種選自由下列所組成之群組：SEQ ID NO：4 的胺基酸 N58、E60、Q62、Q64、L65、F107、I109、H111、T117、T119、G120 和 R121。

[0239] 在特定的實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑(例如抗體)結合 TIGIT 及調節 TIGIT 活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為 TIGIT 拮抗劑且降低 TIGIT 活性。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或約 100%之 TIGIT 活性。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19、或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，抑制人類 TIGIT 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19、或抗體 313R20 之人源化變型。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，抑制人類 TIGIT 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26(例如抗體 313M32)之人源化變型。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0240] 在一些實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑結合 TIGIT 及抑制或降低 TIGIT 傳訊。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)抑制至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或約 100%之 TIGIT 傳訊。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制小鼠 TIGIT 傳訊。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制人類 TIGIT 傳訊。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制小鼠及人類 TIGIT 傳訊。在特定的實施態樣

中，抑制 TIGIT 傳訊之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 傳訊之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 傳訊之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0241] TIGIT 係在與其相反受體(counter-receptor) PVR 交互作用之後在其胞質尾區磷酸化。TIGIT 之磷酸化為級聯的開始，該級聯包括影響其他已知的傳訊途徑之下游事件。因此，評估 TIGIT 磷酸化可給出關於 TIGIT 活性及 TIGIT 傳訊之訊息。

[0242] 磷酸化檢定法為那些熟習本技術領域者已知且常被用於監測蛋白質活化及/或途徑活化。檢定法可用於監測各種治療對標靶蛋白質及/或標靶途徑之活化的效應。例如，試管內磷酸化檢定法可用於評估 TIGIT 拮抗劑對 PVR 誘發之 TIGIT 活化的效應。

[0243] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)抑制 TIGIT 與受體結合。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制 TIGIT 與 PVR 結合。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制 TIGIT 與 PVR-L2、PVR-L3 及/或 PVR-L4 結合。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 結合劑與 PVR 之結合為至少約 10%，至少約 25%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或至少約 95%。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 結合劑與 PVR-L2、PVR-L3 及/或 PVR-L4 之結合為至少約 10%，至少約 25%，至少約 50%，至少約

75%，至少約 90%或至少約 95%。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 與 PVR 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 與 PVR-L2、PVR-L3 及 /或 PVR-L4 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 與 PVR 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 與 PVR 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 與 PVR-L2、PVR-L3 及 /或 PVR-L4 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，抑制 TIGIT 與 PVR-L2、PVR-L3 及 /或 PVR-L4 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0244] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)阻斷 TIGIT 與受體結合。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑阻斷 TIGIT 與 PVR 結合。在特定的實施態樣中，阻斷 TIGIT 結合劑與 PVR 之結合為至少約 10%，至少約 25%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或至少約 95%。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑阻斷 TIGIT 與 PVR-L2、PVR-L3 及 /或 PVR-L4 結合。在特定的實施態樣中，阻斷 TIGIT 結合劑與 PVR-L2、PVR-L3 及 /或 PVR-L4 之結合為至少約 10%，至少約 25%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或至少約 95%。在特定的實施態樣中，

阻斷 TIGI 與 PVR 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，阻斷 TIGIT 與 PVR-L2、PVR-L3 及 / 或 PVR-L4 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，阻斷 TIGIT 與 PVR 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，阻斷 TIGIT 與 PVR 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。在特定的實施態樣中，阻斷 TIGIT 與 PVR-L2、PVR-L3 及 / 或 PVR-L4 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，阻斷 TIGIT 與 PVR-L2、PVR-L3 及 / 或 PVR-L4 結合之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0245] 結合檢定法為那些熟習本技術領域者已知且於本文說明。結合檢定法監測試驗劑對標靶蛋白質與蛋白質結合夥伴(例如受體或配體)之間的交互作用之效應。例如，試管內結合檢定法可用評估 TIGIT 拮抗劑是否阻斷 TIGIT 對 PVR 之交互作用。

[0246] 在特定的實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑具有下列效應中之一或多者：抑制腫瘤細胞增生、抑制腫瘤生長、降低腫瘤之致瘤性、藉由減少腫瘤中的癌幹細胞頻率而降低腫瘤之致瘤性、觸發腫瘤細胞之細胞死亡、增強或激勵免疫反應、增強或激勵抗腫瘤反應、增加免疫細胞之溶胞活性、增加殺死腫瘤細胞、藉由免疫細胞

增加殺死腫瘤細胞、誘發腫瘤的細胞分化、分化致瘤細胞至非致瘤狀態、誘發腫瘤細胞中的分化標記表現、預防腫瘤細胞轉移、降低腫瘤細胞存活、增加細胞接觸依賴性生長抑制、增加腫瘤細胞凋亡、降低上皮間質轉變(EMT)或降低腫瘤細胞存活。在一些實施態樣中，該劑具有下列效應中之一或多者：抑制病毒感染、抑制慢性病毒感染、減少病毒載量、觸發經病毒感染之細胞的細胞死亡或減少經病毒感染之細胞的數目或百分比。

[0247] 在特定的實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑抑制腫瘤生長。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制活體內腫瘤生長(例如在小鼠模式中及/或在患有癌症之人類中)。在特定的實施態樣中，與未經處理之腫瘤相比，使腫瘤生長抑制至少約 2 倍，約 3 倍，約 5 倍，約 10 倍，約 50 倍，約 100 倍或約 1000 倍。

[0248] 在特定的實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑降低致瘤性。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑在動物模式中(諸如小鼠模式)降低致瘤性。在一些實施態樣中，小鼠模式為小鼠異種移植模式。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑不結合小鼠 TIGIT 且在小鼠模式中無效。在一些實施態樣中，在小鼠模式中使用替代之 TIGIT 結合劑結合小鼠 TIGIT。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑降低在動物模式中(諸如小鼠模式)的腫瘤(包含癌幹細胞)發生性。在特定的實施態樣中，使腫瘤中的癌幹細胞數目或頻率減少至少約 2 倍，約 3 倍，約 5 倍，約 10 倍，約 50

倍，約 100 倍或約 1000 倍。在特定的實施態樣中，減少的癌幹細胞數目或頻率係藉由使用動物模型之限制稀釋試驗檢定法測定。關於使用限制稀釋檢定法測定腫瘤中減少的癌幹細胞數目或頻率之額外實例及指南可見於例如國際公開案號 WO 2008/042236、美國專利公開案號 2008/0064049 及美國專利公開案號 2008/0178305。

[0249] 在特定的實施態樣中，本文所述之劑(例如多肽及/或抗體)結合 TIGIT 及調節免疫反應。在一些實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑活化及/或增加免疫反應。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強細胞媒介之免疫力。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強先天細胞媒介之免疫力。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強後天細胞媒介之免疫力。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強 T 細胞活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強溶胞性 T 細胞(CTL)活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強 NK 細胞活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強淋巴激素活化之殺手細胞(LAK)活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強腫瘤浸潤之淋巴細胞(TIF)活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制或降低 Treg 細胞活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制或降低 MDSC 活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進或增強殺死腫瘤細胞。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增

加、促進或增強腫瘤生長抑制。

[0250] 在特定的實施態樣中，本文所述之劑為人類 TIGIT 拮抗劑。在一些實施態樣中，該劑為 TIGIT 拮抗劑且活化及/或增加免疫反應。在一些實施態樣中，該劑為 TIGIT 拮抗劑且活化及/或增加 NK 細胞活性。在特定的實施態樣中，該劑增加至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或約 100%之活性。在一些實施態樣中，該劑為 TIGIT 拮抗劑且活化及/或增加 T 細胞活性(例如 T 細胞溶胞活性)。在特定的實施態樣中，該劑增加至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或約 100%之活性。在一些實施態樣中，該劑為 TIGIT 拮抗劑且誘發及/或增強 Th1 型免疫反應。Th1 型免疫反應通常包括生產干擾素- γ (IFN- γ)、IL-2 和腫瘤壞死因子- β (TNF- β)。比較之 Th2 型免疫反應通常包括生產 IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10 和 IL-13。在一些實施態樣中，該劑為 TIGIT 拮抗劑且誘發及/或增加細胞激素或淋巴激素生產。在一些實施態樣中，誘發及/或增加細胞激素或淋巴激素生產可為間接效應。

[0251] 在特定的實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑增加 NK 細胞活化。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑增加 T 細胞活化。在特定的實施態樣中，以 TIGIT 結合劑活化 NK 細胞及/或 T 細胞導致增加至少約 10%，至少約 25%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或至少

約 95%之 NK 細胞及/或 T 細胞活化程度。在特定的實施態樣中，增加 NK 細胞活化之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，增加 NK 細胞活化之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，增加 NK 細胞活化之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0252] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)為調節性 T 細胞(Treg)活性之拮抗劑。在特定的實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑抑制或降低 Treg 活性。在特定的實施態樣中，以 TIGIT 結合劑抑制 Treg 活性導致抑制至少約 10%，至少約 25%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%，至少約 95%或約 100%之 Treg 細胞抑制活性。在特定的實施態樣中，抑制 Treg 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，抑制 Treg 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，抑制 Treg 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0253] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)為骨髓衍生性抑制細胞(MDSC)之拮抗劑。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制 MDSC 活性。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或約

100%之 MDSC 活性。在特定的實施態樣中，抑制 MDSC 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，抑制 MDSC 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，抑制 MDSC 活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0254] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)增加自然殺手(NK)細胞活性。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑增加至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或約 100%之 NK 細胞活性。在特定的實施態樣中，增加 NK 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，增加 NK 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，增加 NK 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0255] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)增加腫瘤浸潤之淋巴細胞(TIL)活性。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑增加至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或約 100%之 TIL 活性。在特定的實施態樣中，增加 TIL 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，增加 TIL 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或

抗體 313M32。在特定的實施態樣中，增加 TIL 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0256] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑(例如抗體)增加或增強淋巴激素活化之殺手細胞(LAK)活性。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑增加至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 50%，至少約 75%，至少約 90%或約 100%之 LAK 活性。在特定的實施態樣中，增加 LAK 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313R11、抗體 313R12、抗體 313R14、抗體 313R19 或抗體 313R20。在特定的實施態樣中，增加 LAK 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M26 或抗體 313M32。在特定的實施態樣中，增加 LAK 細胞活性之 TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0257] 用於測定 TIGIT 結合劑(或候選結合劑)是否調節免疫反應之活體內及試管內檢定法為本技術中已知或正在發展中。在一些實施態樣中，可使用功能檢定法檢測 T 細胞活化。在一些實施態樣中，可使用功能檢定法檢測 T 細胞增生。在一些實施態樣中，可使用功能檢定法檢測 NK 活性。在一些實施態樣中，可使用功能檢定法檢測 CTL 活性。在一些實施態樣中，可使用功能檢定法檢測 Treg 活性。在一些實施態樣中，可使用功能檢定法檢測 MDSC 活性。在一些實施態樣中，可使用功能檢定法檢測細胞激素或淋巴激素之生產或細胞生產之細胞激素或淋巴激素。在一些實施態樣中，ELISpot 檢定法係用於測量抗原特異性 T 細胞頻率。在一些實施態樣中，ELISpot 檢定

法係用於測量細胞激素釋放/生產及/或用於測量細胞激素生產之細胞數目。在一些實施態樣中，細胞激素檢定法係用於鑑別 Th1 型反應。在一些實施態樣中，細胞激素檢定法係用於鑑別 Th2 型反應。在一些實施態樣中，細胞激素檢定法係用於鑑別 Th17-型反應。在一些實施態樣中，FACS 分析係用於測量在免疫細胞上的活化標記，該免疫細胞包括但不限於 T 細胞、B-細胞、NK 細胞、巨噬細胞及/或骨髓細胞。

[0258] 在特定的實施態樣中，本文所述之 TIGIT 結合劑在小鼠、大鼠、食蟹獼猴或人類中具有至少約 2 小時、至少約 5 小時、至少約 10 小時、至少約 24 小時、至少約 3 天、至少約 1 週或至少約 2 週之循環半衰期。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為 IgG (例如 IgG1、IgG2 或 IgG4) 抗體，其在小鼠、食蟹獼猴或人類中具有至少約 2 小時、至少約 5 小時、至少約 10 小時、至少約 24 小時、至少約 3 天、至少約 1 週或至少約 2 週之循環半衰期。增加(或降低)該劑(諸如多肽和抗體)的半衰期之方法為本技術中已知。例如，增加 IgG 抗體的循環半衰期之方法包括引入突變至 Fc 區中，其在 pH 6.0 增加抗體與新生 Fc 受體(FcRn)之 pH 依賴性結合。增加缺乏 Fc 區之抗體片段的循環半衰期之已知方法包括諸如聚乙二醇化(PEGylation)之技術。

[0259] 在本文所述之一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為多肽。在一些實施態樣中，多肽為包含抗體或其片段之

重組多肽、天然多肽或合成多肽，其結合 TIGIT。在本技術中承認可改變本發明的一些胺基酸序列而不實質地影響蛋白質的結構或功能。因此，本發明另外包括結合 TIGIT 之多肽的變異，其顯示實質的活性或包括抗體或其片段區域。在一些實施態樣中，TIGIT 結合多肽之胺基酸序列變異包括刪除、插入、反轉、重複及/或其他的取代類型。

[0260] 多肽、類似物及其變體可經另外修飾而含有不是多肽的正常部分之額外的化學部分。經衍生之部分可改進或在其他方面調節多肽的溶解性、生物半衰期及/或吸收。該部分亦可降低或消除多肽及變體的非所欲副作用。化學部分的評論可見於 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22st Edition, 2012, Pharmaceutical Press, London 中。

[0261] 在特定的實施態樣中，本文所述之多肽經分離。在特定的實施態樣中，本文所述之多肽為實質上純的。

[0262] 本文所述之多肽可以本技術中已知任何適合的方法生產。此等方法可在從直接的蛋白質合成方法至建構編碼多肽序列之 DNA 序列及在適合的宿主內表現該等序列之範圍內。在一些實施態樣中，DNA 序列係使用藉由分離或合成編碼關注之野生型蛋白質的 DNA 序列之重組技術而建構。序列可藉由部位特異性突變形成而隨意地突變，以提供其功能性類似物。

[0263] 在一些實施態樣中，編碼關注之多肽的 DNA

序列可藉由使用寡核苷酸合成器之化學合成而建構。寡核苷酸可建基於所欲多肽之胺基酸序列及選擇在其中生產關注的重組多肽之宿主細胞中得利的那些密碼子來設計。標準方法可應用於合成編碼經分離之關注多肽的多核苷酸序列。例如，完全胺基酸序列可用於建構反轉譯基因。另外，可合成含有編碼特別的經分離之多肽的核苷酸序列之 DNA 寡聚體。例如，可合成且接著接合編碼所欲多肽部分的許多小型寡核苷酸。個別的寡核苷酸通常含有用於互補組裝之 5'或 3'懸突。

[0264] 一經組裝(藉由合成、部位引導之突變形成或其他方法)，可將編碼特別的關注多肽之多核苷酸序列插入表現載體中且經操作地連結至適合於所欲宿主內的蛋白質表現之表現控制序列。適當的組裝可藉由在適合的宿主內之核苷酸定序、限制酵素定位及/或生物活性多肽的表現來確認。如本技術所熟知，為了在宿主內獲得高表現程度之轉染基因，基因必須經操作地連結至所選定之表現宿主內具有功能的轉錄及轉譯表現控制序列。

[0265] 在特定的實施態樣中，重組表現載體係用於擴增及表現編碼對抗人類 TIGIT 之抗體或其片段的 DNA。例如，重組表現載體可為可複製的 DNA 建構體，其具有合成或經 cDNA-衍生之編碼 TIGIT 結合劑的多肽鏈(諸如抗 TIGIT 抗體或其片段)之 DNA 片段，其經操作地連結至源自哺乳動物、微生物、病毒或昆蟲基因之適合的轉錄及/或轉譯調節元件。轉錄單位通常包含下列的組

裝：(1)在基因表現中具有調節角色之基因元件，例如轉錄啟動子或增強子，(2)轉錄成 mRNA 及轉譯成蛋白質之結構或編碼序列，及(3)適當的轉錄及轉譯初始及終止序列。調節元件可包括操作子序列以控制轉錄。可另外併入通常由複製起點賦予之宿主內複製的能力及有助於轉形物辨識的選擇基因。DNA 區彼此在功能性相關時，將該等“經操作地連結”。例如，若信號肽之 DNA(分泌前導序列)經表現為參與多肽分泌之前驅體，則將其經操作地連結至多肽之 DNA；若啟動子控制序列轉錄，則將其經操作地連結至編碼序列；或若核糖體結合部位係位於允許轉譯之位置，則該結合部位經操作地連結至編碼序列。在一些實施態樣中，意欲用於酵母菌表現系統之結構元件包括使宿主細胞能細胞外分泌轉譯之蛋白質的前導序列。在其他的實施態樣中，在表現重組蛋白而沒有前導或運送序列的情況中，重組蛋白可包括 N 端甲硫胺酸殘基。此殘基接著可隨意地自經表現之重組蛋白切割以提供最終產物。

[0266] 表現控制序列及表現載體的選擇取決於宿主的選擇。可使用各種廣泛的表現宿主/載體組合。有用於真核宿主的表現載體包括例如包含來自 SV40、牛乳頭狀瘤病毒、腺病毒及巨細胞病毒之表現控制序列的載體。有用於細菌宿主的表現載體包括已知的細菌質體，諸如來自大腸桿菌的質體(包括 pCR1、pBR322、pMB9 和其衍生物)，及廣泛的宿主範圍質體，諸如 M13 及其他的絲狀單股 DNA 噬菌體。

[0267] 本發明的 TIGIT 結合劑(例如多肽或抗體)可由一或多個載體表現。例如，在一些實施態樣中，一個重鏈多肽係由一個載體表現，第二重鏈多肽係由第二載體表現，及輕鏈多肽係由第三載體表現。在一些實施態樣中，第一重鏈多肽及輕鏈多肽係由一個載體表現及第二重鏈多肽係由第二載體表現。在一些實施態樣中，兩個重鏈多肽係由一個載體表現及輕鏈多肽係由第二載體表現。在一些實施態樣中，三個多肽係由一個載體表現。因此，在一些實施態樣中，第一重鏈多肽、第二重鏈多肽及輕鏈多肽係由單一載體表現。

[0268] 適合於 TIGIT 結合多肽或抗體(用作為抗原之 TIGIT 蛋白質)表現之宿主細胞包括原核生物、酵母菌細胞、昆蟲細胞或在適當的啟動子控制下之高級真核細胞。原核生物包括革蘭(gram)陰性或革蘭陽性有機體，例如大腸桿菌或桿菌(Bacillus)。高級真核細胞包括如下文所述之哺乳動物來源的確立細胞系。亦可使用無細胞的轉譯系統。用於細菌、真菌、酵母菌及哺乳動物細胞宿主之適當的選殖及表現載體，以及蛋白質生產(包括抗體生產)方法為本技術中所熟知。

[0269] 各種哺乳動物培養系統可用於表現重組多肽。可能希望哺乳動物細胞中的重組蛋白表現，因為該等蛋白質通常經恰當地折疊、適當地修飾且具有生物功能。適合的哺乳動物宿主細胞系的實例包括但不限於 COS-7(源自猴腎)、L-929(源自小鼠纖維母細胞)、C127(源自小

鼠乳房腫瘤)、3T3(源自小鼠纖維母細胞)、CHO(源自中國倉鼠卵巢)、HeLa(源自人類子宮頸癌)、BHK(源自倉鼠腎纖維母細胞)、HEK-293(源自人類胚胎腎)細胞系及其變體。哺乳動物表現載體可包含非轉錄元件(諸如複製起點、連結至欲表現基因之適合的啟動子和增強子、及其他的5'或3'側翼非轉錄序列)及5'或3'非轉譯序列(諸如必要的核糖體結合部位、聚腺苷酸化部位、剪接施予和受體部位,及轉錄終止序列)。

[0270] 在昆蟲細胞培養系統(例如桿狀病毒)中的重組蛋白表現亦供給用於生產恰當地摺疊及具有生物功能蛋白質之有效方法。用於昆蟲細胞中生產異源性蛋白質的桿狀病毒系統為那些熟習本技領域者所熟知。

[0271] 因此,本發明提供包含本文所述之TIGIT結合劑的細胞。在一些實施態樣中,細胞生產本文所述之TIGIT結合劑。在特定的實施態樣中,細胞生產抗體。在一些實施態樣中,細胞生產結合小鼠TIGIT之抗體。在一些實施態樣中,細胞生產結合人類TIGIT之抗體。在一些實施態樣中,細胞生產結合小鼠TIGIT及人類TIGIT之抗體。在特定的實施態樣中,細胞生產抗體313R11。在特定的實施態樣中,細胞生產抗體313R12。在特定的實施態樣中,細胞生產抗體313R14。在特定的實施態樣中,細胞生產抗體313R19。在特定的實施態樣中,細胞生產抗體313R20。在特定的實施態樣中,細胞生產抗體313M26。在特定的實施態樣中,細胞生產抗體313M32。

在一些實施態樣中，細胞生產結合 TIGIT 之雙特異性抗體。在一些實施態樣中，細胞生產結合 TIGIT 及第二標靶之雙特異性抗體。在一些實施態樣中，細胞為融合瘤細胞。在一些實施態樣中，細胞為哺乳動物細胞。在一些實施態樣中，細胞為原核細胞。在一些實施態樣中，細胞為真核細胞。

[0272] 由轉型宿主所生產之蛋白質可根據任何適合的方法純化。標準的方法包括層析術(例如離子交換、親和性及篩分管柱層析術)、離心、差別性溶解度或用於蛋白質純化之任何其他的標準技術。可將親和性標籤(諸如六組胺酸、麥芽糖結合結構域、流感外套序列和麩胱甘肽-S-轉移酶)連接至蛋白質，容許通過適當的親和性管柱而輕易地純化。用於純化免疫球蛋白之親和性層析術可包括蛋白質 A、蛋白質 G 和蛋白質 L 層析術。經分離之蛋白質亦可使用下列技術經物理特徵化，諸如蛋白水解、尺寸排阻層析術(SEC)、質譜術(MS)、核磁共振(NMR)、等電集聚(IEF)、高性能液相層析術(HPLC)和 x 光結晶術。經分離之蛋白質純度可使用那些熟習本技領域者已知的技術測定，包括但不限於 SDS-PAGE、SEC，毛細管膠體電泳、IEF 和毛細管等電集聚(cIEF)。

[0273] 在一些實施態樣中，來自分泌重組蛋白至培養基之表現系統的上清液可使用市場上可取得的蛋白質濃縮過濾器先濃縮，例如 Amicon 或 Millipore Pellicon 超過濾單位。在濃縮步驟之後，可將濃縮液施加至適合的純化

基質中。在一些實施態樣中，可使用陰離子交換樹脂，例如具有二乙基胺基乙基(DEAE)側鏈的之基質或受質。基質可為丙烯醯胺、洋菜糖、葡聚糖、纖維素或常用於蛋白質純化的其他類型。在一些實施態樣中，可使用陽離子交換步驟。適合的陽離子交換劑包括各種包含磺丙基或羧甲基的不可溶基質。在一些實施態樣中，可採用羶磷灰石基質，包括但不限於陶瓷羶磷灰石(CHT)。在特定的實施態樣中，一或多種使用疏水性 RH-HPLC 基質(例如具有側鏈甲基或其他脂族基團之矽膠)的逆相 HPLC 步驟可用於進一步純化重組蛋白(例如 TIGIT 結合劑)。可使用一些或所有的前述純化步驟之各種組合來提供均勻的重組蛋白。

[0274] 在一些實施態樣中，異質二聚體蛋白質(諸如雙特異性抗體)係根據本文所述之方法中之任一者純化。在一些實施態樣中，抗 TIGIT 雙特異性抗體係使用至少一種層析步驟分離及/或純化。在一些實施態樣中，至少一種層析步驟包含親和性層析術。在一些實施態樣中，至少一種層析步驟另外包含陰離子交換層析術。在一些實施態樣中，經分離及/或純化之抗體產物包含至少 90%之異質二聚體抗體。在一些實施態樣中，經分離及/或純化之抗體產物包含至少 95%，96%，97%，98%或 99%之異質二聚體抗體。在一些實施態樣中，經分離及/或純化之抗體產物包含約 100%之異質二聚體抗體。

[0275] 在一些實施態樣中，可將細菌培養物中所生產之多肽分離，例如藉由自沉澱細胞的初步萃取，接著以

一或多次濃縮、鹽析、水性離子交換或尺寸排阻層析步驟。HPLC 可用於最終純化步驟。用於表現重組蛋白之微生物細胞可以任何習知的法破碎，包括冷凍解凍循環、超音波震盪、機械破碎或使用細胞溶解劑。

[0276] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑為多肽，其不為抗體或不包含免疫球蛋白 Fc 區。用於鑑別及生產以高親和性結合至蛋白質標靶之非抗體多肽的各種方法為本技術中已知。在特定的實施態樣中，噬菌體或哺乳動物展示技術可用於生產及/或鑑別 TIGIT 結合多肽。在特定的實施態樣中，多肽包含選自由下列所組成之群組類型的蛋白質支架：蛋白質 A、蛋白質 G、脂質運載蛋白 (lipocalin)、纖維黏連蛋白 (fibronectin) 結構域、錨蛋白 (ankyrin) 共有重複結構域和硫氧還原蛋白 (thioredoxin)。用於鑑別及生產以高親和性與蛋白質標靶結合之非抗體多肽的各種方法為本技術中已知。在特定的實施態樣中，噬菌體展示技術可用於生產及/或鑑別結合多肽。在特定的實施態樣中，哺乳動物細胞展示技術可用於生產及/或鑑別結合多肽。

[0277] 可另外希望修飾多肽，以便增加(或降低)其血清半衰期。這可藉由例如以多肽中的適當區域之突變而使救援受體結合抗原決定區以併入多肽來達成，或藉由將抗原決定區併入肽標籤中，接著與多肽在末端或中間融合(例如藉由 DNA 或肽合成)來達成。

[0278] 異質共軛分子亦在本發明的範圍內。異質共

軛分子係由兩個共價連接之多肽所組成。經提出的此等分子例如用於使免疫細胞靶定不希望的細胞(例如腫瘤細胞)。亦可預期以使用合成蛋白質化學中已知的方法於試管內製備異質共軛分子，包括那些涉及交聯劑之方法。例如，免疫毒素可使用雙硫交換反應或藉由形成硫醚鍵來建構。適合於此目的之試劑的實例包括亞胺基硫醇鹽及甲基-4-巰基丁亞胺酸酯。

[0279] 在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑可以數種共軛(即免疫共軛物或放射共軛物)或非共軛形式中之任一者使用。在特定的實施態樣中，該劑可以非共軛形式使用以駕馭個體的天然防禦機制，包括補體依賴性細胞毒性(CDC)及抗體依賴性細胞毒性(ADCC)，以消除惡性或癌細胞。

[0280] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑與胞毒劑共軛。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑為與胞毒劑共軛成ADC(抗體-藥物共軛物)之抗體。在一些實施態樣中，胞毒劑為化學治療劑，包括但不限於甲胺喋呤(methotrexate)、甲烯土黴素(adriamycin)/多柔比星(doxorubicin)、黴法蘭(melphalan)、絲裂黴素C(mitomycin C)、氯芥苯丁酸(chlorambucil)、正定黴素(daunorubicin)、吡咯並苯並二氮呋或其他嵌入劑。在一些實施態樣中，胞毒劑為細菌、真菌、植物或動物來源之酵素活性毒素及其片段，包括但不限於白喉毒素 A 鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素 A 鏈、蓖麻毒素 A 鏈、

相思豆毒素(abrin)A 鏈、莫迪素(modeccin)A 鏈、 α -次黃嘌呤(sarcin)、油桐(Aleurites fordii)蛋白質、石竹素(dianthin)蛋白質、美洲商陸(Phytolacca americana)蛋白質(PAPI、PAPII 和 PAP-S)、苦瓜(momordica charantia)抑制劑、瀉果素(curcin)、巴豆素(croton)、肥皂草(saponaire officinalis)抑制劑、白樹毒素(gelonin)、絲裂膠素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)和新月毒素(tricothecene)。在一些實施態樣中，胞毒劑為放射性同位素以生產放射共軛物或經放射共軛之抗體。各種放射性核種可用於生產經放射共軛之抗體，包括但不限於 ^{90}Y 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{123}I 、 ^{111}In 、 ^{131}In 、 ^{105}Rh 、 ^{153}Sm 、 ^{67}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{166}Ho 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 和 ^{212}Bi 。亦可使用抗體與一或多種小分子毒素之共軛物，諸如卡利奇黴素(calicheamicin)、類美坦素(maytansinoids)、新月毒素(tricothene)、CC1065 及該等毒素之具有毒素活性的衍生物。抗體與胞毒劑之共軛物可使用各種雙官能性蛋白偶合劑製得，諸如 N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶二硫醇)丙酸酯(SPDP)、二亞胺環硫丁烷(IT)、醯亞胺酯之雙官能性衍生物(諸如己二亞胺酸二甲酯 HCl)、活性酯(諸如辛二酸二琥珀醯亞胺)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮化合物(諸如雙(對-疊氮苯甲醯基)己二胺)、雙重氮衍生物(諸如雙-(對-重氮苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如 2,6-二異氰酸甲苯酯)和雙活性氟化合物(諸如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。

III. 多核苷酸

[0281] 在特定的實施態樣中，本發明包含多核苷酸，其包含編碼本文所述之劑的多核苷酸。術語“編碼多肽之多核苷酸”包含僅包括多肽之編碼序列的多核苷酸，以及包括額外的編碼及/或未編碼序列之多核苷酸。本發明的多核苷酸可呈 RNA 形式或呈 DNA 形式。DNA 包括 cDNA、cDNA、基因組 DNA 和合成性 NA；且若單股可為編碼股或非編碼(反義)股，則該多核苷酸可為雙股或單股。

[0282] 在特定的實施態樣中，多核苷酸包含編碼多肽之多核苷酸(例如核苷酸序列)，該多肽包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：19、SEQ ID NO：20、SEQ ID NO：21、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：23、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：25、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：29、SEQ ID NO：30、SEQ ID NO：32、SEQ ID NO：33、SEQ ID NO：34、SEQ ID NO：55 和 SEQ ID NO：56。

[0283] 在特定的實施態樣中，多核苷酸包含具有與編碼選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：19、SEQ ID NO：20、SEQ ID NO：21、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：23、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：25、SEQ ID

NO : 26、SEQ ID NO : 27、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 29、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 33、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 55 和 SEQ ID NO : 56 之多核苷酸至少約 80%之一致性，至少約 85%之一致性，至少約 90%之一致性，至少約 95%之一致性，且在一些實施態樣中，至少約 96%，97%，98%或 99%之一致性的核苷酸序列之多核苷酸。亦提供多核苷酸，其包含與編碼選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO : 17、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 19、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 21、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 23、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 25、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 27、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 29、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 33、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 55 和 SEQ ID NO : 56 的多核苷酸雜交之多核苷酸。在特定的實施態樣中，雜交係於高嚴格條件下。高嚴格條件為那些熟習本技術領域者已知且可包括但不限於：(1)使用低離子強度及高溫清洗，例如在 50℃ 下以具有 0.1%十二烷基硫酸鈉之 15mM 氯化鈉/1.5mM 檸檬酸鈉(1x SSC)；(2)在雜交期間使用變性劑，諸如甲醯胺，例如在 42℃ 下使用於 5x SSC(0.75M NaCl, 75mM 檸檬酸鈉)中具有 0.1%牛血清白蛋白/0.1% Ficoll/0.1%聚乙烷基吡咯啉酮/50mM 磷酸鈉緩衝液，pH 6.5 之 50%(體積/體積)甲醯胺；或(3)在 42℃ 下使用 50%甲醯胺、5x SSC、50mM 磷酸鈉(pH 6.8)、0.1%

焦磷酸鈉、5x 丹哈德(Denhardt's)溶液、經音波化之鮭魚精子 DNA(50 微克/毫升)、0.1% SDS 及 10%硫酸葡聚糖，在 55℃ 下以含有 50%甲醯胺之 0.2x SSC 清洗，接著在 55℃ 下以含有 EDTA 之 0.1x SSC 高嚴格清洗。

[0284] 在特定的實施態樣中，多核苷酸包含編碼多肽之多核苷酸，該多肽包含選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：63、SEQ ID NO：64、SEQ ID NO：67、SEQ ID NO：68、SEQ ID NO：69、SEQ ID NO：70、SEQ ID NO：71、SEQ ID NO：72 和 SEQ ID NO：82。

[0285] 在特定的實施態樣中，多核苷酸包含具有與編碼選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：63、SEQ ID NO：64、SEQ ID NO：67、SEQ ID NO：68、SEQ ID NO：69、SEQ ID NO：70、SEQ ID NO：71、SEQ ID NO：72 和 SEQ ID NO:82 之多核苷酸至少約 80%之一致性，至少約 85%之一致性，至少約 90%之一致性，至少約 95%之一致性，且在一些實施態樣中，至少約 96%，97%，98%或 99%之一致性的核苷酸序列之多核苷酸。亦提供多核苷酸，其包含與編碼選自由下列所組成之群組的胺基酸序列：SEQ ID NO：63、SEQ ID NO：64、SEQ ID NO：67、SEQ ID NO：68、SEQ ID NO：69、SEQ ID NO：70、SEQ ID NO：71、SEQ ID NO：72 和 SEQ ID NO：82 的多核苷酸雜交之多核苷酸。

[0286] 在一些實施態樣中，多核苷酸包含選自由下

列所組成之群組的多核苷酸序列：SEQ ID NO：65、SEQ ID NO：66、SEQ ID NO：73、SEQ ID NO：74、SEQ ID NO：75 和 SEQ ID NO：76。在特定的實施態樣中，多核苷酸包含具有與選自由下列所組成之群組的核苷酸序列：SEQ ID NO：65、SEQ ID NO：66、SEQ ID NO：73、SEQ ID NO：74、SEQ ID NO：75 和 SEQ ID NO：76 至少約 80%之一致性，至少約 85%之一致性，至少約 90%之一致性，至少約 95%之一致性，且在一些實施態樣中，至少約 96%，97%，98%或 99%之一致性的核苷酸序列之多核苷酸。亦提供多核苷酸，其包含與選自由下列所組成之群組的多核苷酸序列：SEQ ID NO：65、SEQ ID NO：66、SEQ ID NO：73、SEQ ID NO：74、SEQ ID NO：75 和 SEQ ID NO：76 雜交之多核苷酸。在特定的實施態樣中，雜交技術係在如上述之高嚴格條件下進行。

[0287] 在特定的實施態樣中，多核苷酸包含在相同的閱讀框架中與多核苷酸融合之成熟多肽的編碼序列，該多核苷酸協助例如來自宿主細胞之多肽的表現及分泌(例如作為控制來自細胞之多肽運送的分泌序列功能之前導序列)。具有前導序列之多肽為前蛋白質且可具有以宿主細胞切割之前導序列，以形成多肽之成熟形式。多核苷酸亦可編碼原蛋白質，其為成熟蛋白加上額外的 5'胺基酸殘基。具有原序列(pro-sequence)之成熟蛋白為原蛋白質且為蛋白質的不活化形式。原序列一經切割，則剩下活性成熟蛋白。

[0288] 在特定的實施態樣中，多核苷酸包含在相同的閱讀框架中與標記序列融合之成熟多肽的編碼序列，該標記序列容許例如純化編碼之多肽。例如，標記序列可為由 pQE-9 載體供給之六組胺酸標籤，以提供在細菌宿主之例子中用於純化與標記融合之成熟多肽，或當使用哺乳動物宿主(例如 COS-7 細胞)時，標記序列可為源自流感血球凝集素蛋白質之血球凝集素(HA)標籤。在一些實施態樣中，標記序列為 FLAG-標籤，序列 DYKDDDDK 之肽(SEQ ID NO: 40)，其可與其他的親和性標籤聯合使用。

[0289] 本發明另外關於本文所述之多核苷酸之變體，其中變體編碼例如片段、類似物及/或衍生物。

[0290] 在特定的實施態樣中，本發明提供多核苷酸，其包含具有與編碼包含本文所述之 TIGIT 結合劑的多肽之多核苷酸至少約 80%之一致性，至少約 85%之一致性，至少約 90%之一致性，至少約 95%之一致性，且在一些實施態樣中，至少約 96%，97%，98%或 99%之一致性的核苷酸序列之多核苷酸。

[0291] 如本文所使用的詞句具有與參考核苷酸序列例如 95%之“一致性”的核苷酸序列之多核苷酸意欲指多核苷酸之核苷酸序列與參考序列相同，除了多核苷酸序列可包括以參考核苷酸序列的每 100 個核苷酸計最多 5 點突變。換言之，為了獲得具有核苷酸序列與參考核苷酸序列至少 95%之一致性的多核苷酸，可將參考序列中最多 5%之核苷酸刪除或以另一核苷酸取代，或可將參考序列中的

總核苷酸之最多 5%之核苷酸數目插入參考序列。參考序列的該等突變可發生在參考核苷酸序列的 5'或 3'末端位置上或那些末端位置之間的任何位置，該等任何位置個別地散置在參考序列中的核苷酸之間或參考序列內的一或多相鄰群組中。

[0292] 多核苷酸變體可含有在編碼區、非編碼區或兩者中之變化。在一些實施態樣中，多核苷酸變體含有產生靜默取代、添加或刪除之變化，但不改變經編碼之多肽的性質或活性。在一些實施態樣中，多核苷酸變體包含不導致多肽之胺基酸序列改變的靜默取代(由於基因密碼之簡併性)。多核苷酸變體可就各種原因而生產，例如使特定的宿主之密碼子表現最優化(例如將人類 mRNA 中的密碼子改變成細菌宿主(諸如大腸桿菌)偏好之密碼子)。在一些實施態樣中，多核苷酸變體包含至少一個在序列的非編碼或編碼區中之靜默突變。

[0293] 在一些實施態樣中，生產多核苷酸變體以調節或改變經編碼之多肽的表現(或表現量)。在一些實施態樣中，生產多核苷酸變體以增加經編碼之多肽的表現。在一些實施態樣中，生產多核苷酸變體以降低經編碼之多肽的表現。在一些實施態樣中，與親代多核苷酸序列相比，多核苷酸變體增加經編碼之多肽的表現。在一些實施態樣中，與親代多核苷酸序列相比，多核苷酸變體降低經編碼之多肽的表現。

[0294] 在一些實施態樣中，生產至少一種多核苷酸

變體(不改變經編碼之多肽的胺基酸序列)以增加異質二聚體分子之生產。在一些實施態樣中，生產至少一種多核苷酸變體(不改變經編碼之多肽的胺基酸序列)以增加雙特異性抗體之生產。

[0295] 在特定的實施態樣中，多核苷酸經分離。在特定的實施態樣中，多核苷酸為實質上純的。

[0296] 亦提供包含本文所述之多核苷酸的載體及細胞。在一些實施態樣中，表現載體包含多核苷酸分子。在一些實施態樣中，宿主細胞包含表現載體，其包含多核苷酸分子。在一些實施態樣中，宿主細胞包含多核苷酸分子。

IV. 使用方法及醫藥組成物

[0297] 本發明的 TIGIT 結合劑有用於各種應用，包括但不限於治療性治療方法，諸如癌症治療。在一些實施態樣中，治療性治療方法包含癌症之免疫治療。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑有用於活化、促進、增強及/或提高免疫反應、抑制腫瘤生長、減少腫瘤體積、增加腫瘤細胞凋亡及/或降低致瘤性。在一些實施態樣中，本發明的 TIGIT 結合劑亦有用於對抗病原體(諸如病毒)之免疫治療。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑有用於活化、促進、增強及/或提高免疫反應、抑制病毒感染、降低病毒感染、增加病毒感染細胞凋亡及/或增加殺死病毒感染細胞。使用方法可為試管內、活體外或活體內方法。

[0298] 本發明提供使用本文所述之 TIGIT 結合劑活化個體的免疫反應之方法。在一些實施態樣中，本發明提供使用本文所述之 TIGIT 結合劑促進個體的免疫反應之方法。在一些實施態樣中，本發明提供使用本文所述之 TIGIT 結合劑增加個體的免疫反應之方法。在一些實施態樣中，本發明提供使用本文所述之 TIGIT 結合劑增強個體的免疫反應之方法。在一些實施態樣中，活化、促進、增強及/或提高免疫反應包含增加細胞媒介之免疫力。在一些實施態樣中，活化、促進、增強及/或提高免疫反應包含增加 T 細胞活性。在一些實施態樣中，活化、促進、增強及/或提高免疫反應包含增加 CTL 活性。在一些實施態樣中，活化、促進、增強及/或提高免疫反應包含增加 NK 細胞活性。在一些實施態樣中，活化、促進、增強及/或提高免疫反應包含增加 T 細胞活性及增加 NK 細胞活性。在一些實施態樣中，活化、促進、增強及/或提高免疫反應包含增加 CTL 活性及增加 NK 細胞活性。在一些實施態樣中，活化、促進、增強及/或提高免疫反應包含抑制或降低 Treg 之抑制活性。在一些實施態樣中，活化、促進、增強及/或提高免疫反應包含抑制或降低 MDSC 之抑制活性。在一些實施態樣中，免疫反應為抗原刺激的結果。在一些實施態樣中，抗原刺激為腫瘤細胞。在一些實施態樣中，抗原刺激為癌。在一些實施態樣中，抗原刺激為病原體。在一些實施態樣中，抗原刺激為病毒。在一些實施態樣中，抗原刺激為病毒感染細胞。在一些實施態樣

中，在本文所述之方法中之任一者中，TIGIT 結合劑為抗 TIGIT 抗體。在一些實施態樣中，在本文所述之方法中之任一者中，TIGIT 結合劑為抗體 313M32。

[0299] 在一些實施態樣中，增加個體的免疫反應之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之 TIGIT 結合劑，其中該劑為特異性結合 TIGIT 的細胞外結構域之抗體。在一些實施態樣中，增加個體的免疫反應之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之 TIGIT 結合劑，其中該劑為特異性結合人類 TIGIT 的細胞外結構域之抗體。在一些實施態樣中，增加個體的免疫反應之方法包含對個體投予治療有效量的抗體 313M32。

[0300] 在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於活化、促進、增強及/或提高免疫反應之藥劑。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於增加細胞媒介之免疫力之藥劑。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於增加 T 細胞活性之藥劑。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於增加 CTL 活性之藥劑。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於增加 NK 活性之藥劑。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於抑制或降低 Treg 之抑制活性之藥劑。在一些實施態樣中，本發明提供

本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於抑制或降低 MDSC 之抑制活性之藥劑。

[0301] 本發明亦提供抑制及/或降低細胞的 TIGIT 傳訊之方法，其包含將細胞與有效量的本文所述之 TIGIT 結合劑接觸。在一些實施態樣中，抑制及/或降低細胞的 TIGIT 傳訊之方法包含將細胞與有效量的抗體 313M32 接觸。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於抑制及/或降低細胞的 TIGIT 傳訊之藥劑。在特定的實施態樣中，細胞為 T 細胞。在一些實施態樣中，細胞為活化之 T 細胞。在一些實施態樣中，細胞為 NK 細胞。在一些實施態樣中，細胞為 Treg。在一些實施態樣中，細胞為 MDSC。在特定的實施態樣中，該方法為活體內方法，其中細胞與該劑接觸之步驟包含對個體投予治療有效量的 TIGIT 結合劑。在一些實施態樣中，該方法為試管內或活體外方法。

[0302] 本發明亦提供使用本文所述之 TIGIT 結合劑抑制腫瘤生長之方法。在一些實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含使用抗體 313M32。在特定的實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含將細胞混合物與 TIGIT 結合劑於試管內接觸。例如，將與免疫細胞(例如 T 細胞或 NK 細胞)混合的不朽細胞系或癌細胞系在添加結合 TIGIT 之試驗劑的培養基中培育。在一些實施態樣中，將腫瘤細胞自患者樣品(諸如組織生檢、胸膜滲液或血液樣品)分離，與免疫細胞(例如 T 細胞及/或 NK 細胞)混合且在添加結合 TIGIT

之試驗劑的培養基中培育。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於抑制腫瘤或腫瘤細胞生長之藥劑。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進及/或增強免疫細胞活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制腫瘤細胞生長。

[0303] 在一些實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含將腫瘤或腫瘤細胞與本文所述之 TIGIT 結合劑在活體內接觸。在特定的實施態樣中，腫瘤或腫瘤細胞與 TIGIT 結合劑接觸係在動物模式中進行。例如，試驗劑可投予患有腫瘤的小鼠。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑增加、促進及/或增強小鼠的免疫細胞活性。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑抑制腫瘤生長。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑引起腫瘤消退。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係在腫瘤細胞引入動物的同時或之後旋即投予，以預防腫瘤生長(“預防性模式”)。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係在腫瘤已生長至特定大小或已“確立”之後作為治療投予(“治療性模式”)。

[0304] 在特定的實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含對個體投予治療有效量的本文所述之 TIGIT 結合劑。在特定的實施態樣中，個體為人類。在特定的實施態樣中，個體具有腫瘤或個體已有至少部分移除之腫瘤。在一些實施態樣中，抑制腫瘤生長之方法包含對個體投予治療有效量的抗體 313M32。

[0305] 另外，本發明提供抑制個體的腫瘤生長之方

法，其包含對個體投予治療有效量的本文所述之 TIGIT 結合劑。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於抑制腫瘤或腫瘤細胞生長之藥劑。在特定的實施態樣中，腫瘤包含癌幹細胞。在特定的實施態樣中，在腫瘤中的癌幹細胞頻率係藉由投予該劑而降低。在一些實施態樣中，提供降低個體腫瘤的癌幹細胞頻率之方法，其包含對個體投予治療有效量的 TIGIT 結合劑。

[0306] 另外，本發明提供降低個體的致瘤性之方法，其包含對個體投予治療有效量的本文所述之 TIGIT 結合劑。在特定的實施態樣中，腫瘤包含癌幹細胞。在一些實施態樣中，致瘤性係藉由降低腫瘤的癌幹細胞頻率而降低。在一些實施態樣中，該方法包含使用本文所述之 TIGIT 結合劑。在特定的實施態樣中，腫瘤的癌幹細胞頻率係藉由投予本文所述之 TIGIT 結合劑而降低。在一些實施態樣中，降低個體的致瘤性之方法包含對個體投予治療有效量抗體 313M32。

[0307] 在一些實施態樣中，腫瘤為實體腫瘤。在特定的實施態樣中，腫瘤為選自由下列所組成之群組的腫瘤：結腸直腸腫瘤、胰腫瘤、肺腫瘤、卵巢腫瘤、肝腫瘤、乳房腫瘤、腎腫瘤、前列腺腫瘤、神經內分泌腫瘤、胃腸道腫瘤、黑色素瘤、子宮頸腫瘤、膀胱腫瘤、神經膠質母細胞瘤和頭與頸腫瘤。在特定的實施態樣中，腫瘤為結腸直腸腫瘤。在特定的實施態樣中，腫瘤為卵巢腫瘤。

在一些實施態樣中，腫瘤為肺腫瘤。在特定的實施態樣中，腫瘤為胰腫瘤。在特定的實施態樣中，腫瘤為黑色素腫瘤。

[0308] 本發明提供治療癌症之方法，其包含對個體(例如需要治療之個體)投予治療有效量的本文所述之 TIGIT 結合劑。在一些實施態樣中，本發明提供本文所述之 TIGIT 結合劑之用途，其製造或製備用於治療癌症之藥劑。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑結合人類 TIGIT 且抑制或降低癌生長。在特定的實施態樣中，個體為人類。在特定的實施態樣中，個體具有癌性腫瘤。在特定的實施態樣中，個體已有至少部分移除的腫瘤。在一些實施態樣中，用於治療個體癌症之方法包含對個體投予治療有效量的抗體 313M32。

[0309] 在特定的實施態樣中，癌症為選自由下列所組成之群組的癌症：結腸直腸癌、胰臟癌、肺癌、卵巢癌、肝癌、乳癌、腎臟癌、前列腺癌、胃腸道癌、黑色素瘤、子宮頸癌、神經內分泌癌、膀胱癌、神經膠質母細胞瘤和頭與頸癌。在特定的實施態樣中，癌症為胰臟癌。在特定的實施態樣中，癌症為卵巢癌。在特定的實施態樣中，癌症為結腸直腸癌。在特定的實施態樣中，癌症為乳癌。在特定的實施態樣中，癌症為前列腺癌。在特定的實施態樣中，癌症為肺癌。在特定的實施態樣中，癌症為黑色素瘤。

[0310] 在一些實施態樣中，癌症為血液性癌。在一

些實施態樣中，癌症係選自由下列所組成之群組：急性骨髓性白血病(AML)、霍奇金氏(Hodgkin)淋巴瘤、多發性骨髓瘤、T細胞急性淋巴胚細胞白血病(T-ALL)、慢性淋巴細胞性(CLL)、毛細胞白血病、慢性骨髓性白血病(CML)、非霍奇金氏淋巴瘤、瀰漫性大型B細胞淋巴瘤(DLBCL)、套細胞淋巴瘤(MCL)和皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)。

[0311] 在本文所述之方法的一些實施態樣中，該方法另外包含測定腫瘤或癌中的PD-L1表現量之步驟。在一些實施態樣中，測定PD-L1表現量係在以本文所述之TIGIT結合劑治療之前進行。在一些實施態樣中，若腫瘤或癌具有上升的PD-L1表現量，則將TIGIT結合劑投予個體。在一些實施態樣中，該方法包含(i)獲得個體的癌或腫瘤樣品；(ii)測量樣品中的PD-L1表現量；及(iii)若腫瘤或癌具有上升的PD-L1表現量，則對個體投予有效量的TIGIT結合劑。在一些實施態樣中，樣品為生檢樣品。在一些實施態樣中，樣品包含腫瘤細胞、腫瘤浸潤之免疫細胞、基質細胞及其任何組合。在一些實施態樣中，樣品為經福馬林固定之石蠟包埋(FFPE)樣品。在一些實施態樣中，樣品為歸檔、新鮮或冷凍組織。在一些實施態樣中，將樣品中的PD-L1表現量與預測定之PD-L1表現量比較。在一些實施態樣中，預測定之PD-L1表現的表現量為參考腫瘤樣品、參考正常組織樣品、一系列的參考腫瘤樣品或一系列的參考正常組織樣品中的PD-L1表現量。在一

些實施態樣中，PD-L1 表現量係使用免疫組織化學(IHC)檢定法測定。在一些實施態樣中，PD-L1 表現量係使用包含 H-分數評估的檢定法測定。在一些實施態樣中，PD-L1 表現量係使用特異性結合 PD-L1 之抗體測定。在一些實施態樣中，PD-L1 係在腫瘤細胞上檢測。在一些實施態樣中，PD-L1 係在腫瘤浸潤之免疫細胞上檢測。

[0312] 以二或更多種治療劑之組合療法常使用以不同作用機轉運作之劑，雖然並非必要。使用具有不同的作用機轉之劑的組合療法可能導致加成或協同效應。組合療法可容許單一劑之劑量比單一療法使用之劑量更低，由此降低該劑之毒性副作用及/或增加治療指數。組合療法可降低抗藥性癌細胞發生的可能性。在一些實施態樣中，組合療法包含影響免疫反應(例如增強或活化反應)之治療劑及影響(例如抑制或殺死)腫瘤/癌細胞之治療劑。

[0313] 在一些實施態樣中，本文所述之劑與至少一種額外治療劑之組合導致加成或協同效應。在一些實施態樣中，組合療法導致本文所述之劑的治療指數增加。在一些實施態樣中，組合療法導致額外治療劑的治療指數增加。在一些實施態樣中，組合療法導致本文所述之劑的毒性及/或副作用降低。在一些實施態樣中，組合療法導致額外治療劑的毒性及/或副作用降低。

[0314] 在特定的實施態樣中，除了投予本文所述之 TIGIT 結合劑以外，該方法或治療另外包含投予至少一種額外治療劑。額外治療劑可在投予 TIGIT 結合劑之前、同

步及/或之後投予。在一些實施態樣中，至少一種額外治療劑包含 1、2、3 或更多個額外治療劑。

[0315] 治療劑可與本文所述之劑組合投予，包括化療劑。因此，在一些實施態樣中，該方法或治療包含本發明之劑與化療劑組合或與化療劑混合液組合投予。以本發明之劑治療可發生在投予化療劑之前、同步或之後。組合投予可包括以單一醫藥調配物或使用分開的調配物共同投予，或以任何順序連續投予，但是通常在一段期間內，使得所有的活性劑可同時發揮彼等生物活性。該等化療劑的準備及投予時程可根據製造商的指示使用或由熟習的醫師憑經驗決定。該等化療劑的準備及投予時程亦說明於 The Chemotherapy Source Book, 4th Edition, 2008, M. C. Perry, Editor, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PA 中。

[0316] 有用的治療劑類別包括例如抗微管蛋白劑、奧立他汀(auristatin)、DNA 小溝結合劑(minor groove binder)、DNA 複製抑制劑、烷化劑(例如鉑複合物，諸如順鉑(cisplatin)、單(鉑)、二(鉑)和三核鉑複合物，及卡鉑(carboplatin))、蒽環類(anthracycline)、抗生素、抗葉酸劑、抗代謝物、化療致敏劑、倍癌黴素(duocarmycin)、依托泊苷(etoposide)、氟化嘧啶、離子載體、萊克西托素(lexitropsin)、亞硝基尿素、普拉汀諾(platinol)、嘌呤抗代謝物、嘌呤黴素(puromycin)、放射致敏劑、類固醇、紫杉烷、拓撲異構酶抑制劑、長春花生物鹼或類似者。在特

定的實施態樣中，第二治療劑為烷化劑、抗代謝物、抗有絲分裂劑、拓撲異構酶抑制劑或血管生成抑制劑。

[0317] 在本發明中有用的化療劑包括但不限於烷化劑，諸如噻替派(thiotepa)和環磷醯胺(cyclophosphamide)(CYTOXAN)；烷基磺酸鹽，諸如白消安(busulfan)、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan)；氮丙啶，諸如苯多巴(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、甲基優瑞多巴(meturedopa)和優瑞多巴(uredopa)；伸乙亞胺(ethylenimines)及甲基三聚氰胺(methylamelamines)，包括阿草特胺(altretamine)、三亞乙基三聚氰胺(triethylenemelamine)、三乙烯磷醯胺(triethylenephosphoramide)、三乙烯硫磷醯胺(triethylenethiophosphoramide)和三羥甲基三聚氰胺(trimethylolomelamine)；氮芥子氣，諸如氯芥苯丁酸(chlorambucil)、萘氮芥(chlorophazine)、氯磷醯胺(chlorophosphamide)、雌二醇氮芥(estramustine)、異環磷酰胺(ifosfamide)、雙氯乙基甲胺(mechlorethamine)、氧氮芥(mechlorethamine oxide)鹽酸鹽、黴法蘭(melphalan)、新氮芥(novembichin)、膽甾醇苯乙酸氮芥(phenesterine)、松龍苯芥(prednimustine)、氯乙環磷醯胺(trofosfamide)、尿嘧啶芥(uracil mustard)；亞硝基脲(nitrosureas)，諸如卡氮芥(carmustine)、吡葡亞硝脲(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、羅氮芥(lomustine)、尼氮芥(nimustine)、雷諾氮芥(ranimustine)；抗生素，諸如阿克拉黴素

(aclacinomysins)、放線菌素(actinomycin)、安曲黴素(authramycin)、氮絲胺酸(azaserine)、博來黴素(bleomycins)、放線菌素(cactinomycin)、卡利奇黴素(calicheamicin)、卡拉比辛(carabycin)、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌素(carzinophilin)、色黴素(chromomycins)、達克黴素(dactinomycin)、正定黴素(daunorubicin)、地托比星(detorubicin)、6-重氮-5-側氧基-L-正白胺酸、多柔比星(doxorubicin)、表阿黴素(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊達比星(idarubicin)、麻西羅黴素(marcellomycin)、絲裂黴素(mitomycins)、黴酚酸、諾加黴素(nogalamycin)、橄欖黴素(olivomycin)、培洛黴素(peplomycin)、波弗黴素(potfiromycin)、嘌呤黴素(puromycin)、三鐵阿黴素(quelamycin)、羅多比星(rodorubicin)、鏈黴黑素(streptonigrin)、鏈脲佐菌素(streptozocin)、殺結核菌素(tubercidin)、烏苯美司(ubenimex)、新制癌菌素(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤(methotrexate)和5-氟尿嘧啶(5-FU)；葉酸類似物，諸如二甲葉酸(denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤(pteropterin)、三甲蝶呤(trimetrexate)；嘌呤類似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine)、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-硫唑嘌呤嘧啶(6-azauridine)、卡莫氟

(carmofur)、胞嘧啶阿拉伯糖苷、二去氧尿苷、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、5-FU；雄性素，諸如卡魯甾酮(calusterone)、屈他雄酮(dromostanolone)丙酸鹽、硫雄甾醇(epitioestanol)、美雄烷(mepitioestane)、甾內酮(testolactone)；抗腎上腺劑，諸如胺魯米特(aminogluthethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如亞葉酸；醋葡萄糖內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基酮戊酸(aminolevulinic acid)；安吡啶(amsacrine)；貝斯特氮芥(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；依達曲沙(edatraxate)；磷胺氮芥(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地吡醌(diaziquone)；艾氟米辛(elformithine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；依托格魯(etoglucid)；硝酸鎳(gallium nitrate)；脛基脲；香菇糖(lentinan)；氯尼達明(lonidamine)；米托胍脲(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidamol)；二胺硝吡啶(nitracrine)；噴司他丁(pentostatin)；蛋胺氮芥(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；鬼臼酸(podophyllinic acid)；2-乙基醯肼(2-ethylhydrazide)；丙卡巴肼(procarbazine)；PSK；雷佐生(razoxane)；西佐喃(sizofuran)；鎳螺旋胺(spirogermanium)；細交鏈孢菌酮酸(tenuazonic acid)；三亞胺醌(triaziquone)；2,2',2''-三氯三乙胺(2,2',2''-trichlorotriethylamine)；烏拉坦(urethan)；長春地辛

(vindesine)；達卡巴嗪(dacarbazine)；甘露莫司汀(mannomustine)；二溴甘露醇(mitobronitol)；二溴衛矛醇(mitolactol)；哌泊溴烷(pipobroman)；加西托星(gacytosine)；阿拉伯糖苷(Ara-C)；類紫杉醇(taxoids)，例如太平洋紫杉醇(TAXOL)和多西紫杉醇(TAXOTERE)；苯丁酸氮芥(chlorambucil)；吉西他濱(gemcitabine)；6-硫鳥嘌呤；巯嘌呤(mercaptopurine)；鉑類似物，諸如順鉑(cisplatin)和卡鉑(carboplatin)；長春鹼(vinblastine)；鉑(platinum)；依托泊苷(etoposide)(VP-16)；異環磷醯胺(ifosfamide)；絲裂黴素 C；米托蒽醌(mitoxantrone)；長春新鹼(vincristine)；長春瑞濱(vinorelbine)；溫諾平(navelbine)；米托蒽醌(novantrone)；替尼泊苷(teniposide)；道諾黴素(daunomycin)；胺喋呤(aminopterin)；伊班膦酸鹽(ibandronate)；CPT11；拓撲異構酶抑制劑 RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；視黃酸；埃斯培拉黴素(esperamicins)；卡培他濱(capecitabine)(XELODA)及上述任一劑之醫藥上可接受的鹽、酸或衍生物。化療劑亦包括調節或抑制荷爾蒙對腫瘤作用之抗荷爾蒙劑，諸如抗雌激素劑，包括例如它莫西芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、芳香酶抑制 4(5)-咪唑、4-羥基它莫西芬、曲沃昔芬(trioxifene)、雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)和托瑞米芬(toremifene)(FARESTON)；及抗雄性素劑，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯米特(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、柳普林

(leuprolide)和戈舍瑞林(goserelin)；及上述任一劑之醫藥上可接受的鹽、酸或衍生物。在特定的實施態樣中，額外治療劑為順鉑。在特定的實施態樣中，額外治療劑為卡鉑。

[0318] 在特定的實施態樣中，化療劑為拓撲異構酶抑制劑。拓撲異構酶抑制劑為干擾拓撲異構酶(例如拓撲異構酶 I 或 II)活性之化療劑。拓撲異構酶抑制劑包括但不限於多柔比星(doxorubicin) HCl、正定黴素檸檬酸鹽(daunorubicin citrate)、米托蒽醌(mitoxantrone) HCl、放線菌素 D、依托泊苷(etoposide)、拓撲替康(topotecan) HCl、替尼泊苷(teniposide)(VM-26)及伊立替康(irinotecan)，以及該等中任一劑之醫藥上可接受的鹽、酸或衍生物。在一些實施態樣中，額外治療劑為伊立替康。

[0319] 在特定的實施態樣中，化療劑為抗代謝物。抗代謝物為化學物質，其結構類似正常生化反應所需之代謝物，但仍有足以干擾一或多種細胞正常功能之差別，諸如細胞分裂。抗代謝物包括但不限於吉西他濱(gemcitabine)、氟尿嘧啶(flourouracil)、卡培他濱(capecitabine)、甲胺喋呤鈉、雷替曲塞(ralitrexed)、培美曲塞(pemetrexed)、替加氟(tegafur)、胞嘧啶阿拉伯糖苷(cytosine arabinoside)、硫鳥嘌呤、5-氮雜胞苷、6-巰基嘌呤、硫唑嘌呤、6-硫鳥嘌呤、噴司他丁(pentostatin)、氟達拉濱(fludarabine)鹽酸鹽和克拉屈濱(cladribine)，以及該等中任一劑之醫藥上可接受的鹽、酸或衍生物。在特定

的實施態樣中，額外治療劑為吉西他濱。

[0320] 在特定的實施態樣中，化療劑為抗有絲分裂劑，包括但不限於結合微管蛋白之劑。在一些實施態樣中，該劑為紫杉烷。在特定的實施態樣中，該劑為太平洋紫杉醇 (paclitaxel) 或多西紫杉醇 (docetaxel)，或太平洋紫杉醇或多西紫杉醇之醫藥上可接受的鹽、酸或衍生物。在特定的實施態樣中，該劑為太平洋紫杉醇 (TAXOL)、多西紫杉醇 (TAXOTERE)、白蛋白結合之太平洋紫杉醇 (ABRAXANE)、DHA-太平洋紫杉醇或 PG-太平洋紫杉醇。在特定的可替代實施態樣中，抗有絲分裂劑包含長春花生物鹼，諸如長春新鹼 (vincristine)、長春鹼 (vinblastine)、長春瑞濱 (vinorelbine) 或長春地辛 (vindesine) 或其醫藥上可接受的鹽、酸或衍生物。在一些實施態樣中，抗有絲分裂劑為驅動蛋白 (kinesin) Eg5 之抑制劑或有絲分裂激酶 (諸如 AuroraA 或 Plk1) 之抑制劑。在特定的實施態樣中，額外治療劑為太平洋紫杉醇。

[0321] 在一些實施態樣中，額外治療劑包含諸如小分子之劑。例如，治療可包含本發明之劑與作為抗腫瘤相關性抗原 (包括但不限於 EGFR、HER2 (ErbB2) 及 / 或 VEGF) 之抑制劑作用的小分子之組合投予。在一些實施態樣中，本發明之劑係與選自由下列所組成之群組的蛋白激酶抑制劑組合投予：吉非替尼 (gefitinib) (IRESSA)、埃羅替尼 (erlotinib) (TARCEVA)、舒尼替尼 (sunitinib) (SUTENT)、拉帕替尼 (lapatanib)、凡德他尼 (vandetanib)

(ZACTIMA)、AEE788、CI-1033、西地尼布(cediranib)(RECENTIN)、索拉非尼(sorafenib)(NEXAVAR)和帕唑帕尼(pazopanib)(GW786034B)。在一些實施態樣中，額外治療劑包含 mTOR 抑制劑。

[0322] 在特定的實施態樣中，額外治療劑為抑制癌幹細胞途徑之劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為 Notch 途徑之抑制劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為 Wnt 途徑之抑制劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為 BMP 途徑之抑制劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為 Hippo 途徑之抑制劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為 RSPO/LGR 途徑之抑制劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為 mTOR/AKR 途徑之抑制劑。

[0323] 在一些實施態樣中，額外治療劑包含生物分子，諸如抗體。例如，治療可包含本發明之劑與抗腫瘤相關性抗原之抗體(包括但不限於結合 EGFR、HER2/ErbB2 及/或 VEGF 之抗體)之組合投予。在特定的實施態樣中，額外治療劑為對癌幹細胞標記特異性之抗體。在一些實施態樣中，額外治療劑為結合 Notch 途徑的組份之抗體。在一些實施態樣中，額外治療劑為結合 Wnt 途徑的組份之抗體。在特定的實施態樣中，額外治療劑為抑制癌幹細胞途徑之抗體。在一些實施態樣中，額外治療劑為 Notch 途徑之抑制劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為 Wnt 途徑之抑制劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為 BMP 途徑之抑制劑。在一些實施態樣中，額外治療劑為抑制 β -連環蛋

白傳訊之抗體。在特定的實施態樣中，額外治療劑為血管生成抑制劑之抗體(例如抗 VEGF 或 VEGF 受體抗體)。在特定的實施態樣中，額外治療劑為貝伐珠單抗(bevacizumab)(AVASTIN)、雷莫蘆單抗(ramucirumab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)(HERCEPTIN)、帕妥珠單抗(pertuzumab)(OMNITARG)、帕尼單抗(panitumumab)(VECTIBIX)、尼妥珠單抗(nimotuzumab)、扎魯木單抗(zalutumumab)或西妥昔單抗(cetuximab)(ERBITUX)。

[0324] 在特定的實施態樣中，除了投予本文所述之 TIGIT 結合劑以外，該方法或治療另外包含投予至少一種額外的免疫治療劑。在一些實施態樣中，額外的免疫治療劑為免疫反應刺激劑。在一些實施態樣中，免疫治療劑(例如免疫反應刺激劑)包括但不限於集落刺激因子(例如顆粒細胞-巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬細胞集落刺激因子(M-CSF)、顆粒細胞集落刺激因子(G-CSF)、幹細胞因子(SCF))、介白素(例如 IL-1、IL2、IL-3、IL-7、IL-12、IL-15、IL-18)、阻斷免疫抑制功能之抗體(例如抗 CTLA4 抗體、抗 CD28 抗體、抗 CD3 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體)、增強免疫細胞功能之抗體(例如抗 GITR 抗體或抗 OX-40 抗體)、類鐸受體(例如 TLR4、TLR7、TLR9)、可溶性配體(例如 GITRL 或 OX-40L)或 B7 家族成員(例如 CD80、CD86)。額外的免疫治療劑(例如免疫反應刺激劑)可在投予 TIGIT 結合劑之前、同步及/或之後投予。亦提供包含 TIGIT 結合劑及額外的免疫治療劑

(例如免疫反應刺激劑)之醫藥組成物。在一些實施態樣中，免疫治療劑包含 1、2、3 或更多種免疫治療劑。在一些實施態樣中，免疫反應刺激劑包含 1、2、3 或更多種免疫反應刺激劑。

[0325] 在一些實施態樣中，額外治療劑為免疫檢查點抑制劑之抗體。在一些實施態樣中，免疫檢查點抑制劑為抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 CTLA4 抗體、抗 CD28 抗體、抗 LAG3 抗體、抗 TIM3 抗體、抗 GITR 抗體或抗 OX-40 抗體。在一些實施態樣中，免疫檢查點抑制劑為抗 4-1BB 抗體。在一些實施態樣中，額外治療劑為選自由下列所組成之群組的抗 PD-1 抗體：尼沃單抗 (nivolumab)(OPDIVO)、派姆單抗 (pembrolizumab)(KEYTRUDA)或皮狄單抗 (pidilizumab)。在一些實施態樣中，額外治療劑為選自由下列所組成之群組的抗 PD-1 抗體：MEDI0680、REGN2810、BGB-A317 和 PDR001。在一些實施態樣中，額外治療劑為選自由下列所組成之群組的抗 PD-L1 抗體：BMS935559 (MDX-1105)，阿替索單抗 (atezolizumab)(MPDL3280A)、德瓦魯單抗 (durvalumab)(MEDI4736)或阿維單抗 (avelumab)(MSB0010718C)。在一些實施態樣中，額外治療劑為選自由下列所組成之群組的抗 CTLA-4 抗體：伊匹單抗 (ipilimumab)(YERVOY)或曲美木單抗 (tremelimumab)。在一些實施態樣中，額外治療劑為選自由下列所組成之群組的抗 LAG-3 抗體：BMS-986016 和 LAG525。在一些實施態樣中，額外治療劑為選

自由下列所組成之群組的抗 OX-40 抗體：MEDI6469、MEDI0562 和 MOXR0916。在一些實施態樣中，額外治療劑為選自由下列所組成之群組的抗 4-1BB 抗體：PF-05082566。

[0326] 此外，以本文所述之 TIGIT 結合劑治療可包括與其他的生物分子之組合治療，諸如一或多種細胞激素(例如淋巴激素、介白素、干擾素、腫瘤壞死因子及/或生長因子)，或可伴隨手術移除腫瘤、移除癌細胞或由治療醫師認為必要的任何其他療法。

[0327] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑可與選自由下列所組成之群組的生物分子組合投予：腎上腺髓質素(AM)、血管生成素(Ang)、BMPs、BDNF、EGF、紅血球生成素(EPO)、FGF、GDNF、G-CSF、GM-CSF、GDF9、HGF、HDGF、IGF、移動刺激因子、肌肉抑制素(GDF-8)、NGF、神經生長激素、PDGF、血小板生成素、TGF- α 、TGF- β 、TNF- α 、VEGF、PlGF、 γ -IFN、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-12、IL-15 和 IL-18。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑可與選自由下列所組成之群組的生物分子組合投予：巨噬細胞集落刺激因子(M-CSF)和幹細胞因子(SCF)。

[0328] 在一些實施態樣中，以本文所述之 TIGIT 結合劑治療可伴隨手術移除腫瘤、移除癌細胞或由治療醫師認為必要的任何其他手術療法。

[0329] 在特定的實施態樣中，治療包含投予本發明

的 TIGIT 結合劑與放射療法之組合。以 TIGIT 結合劑治療可發生在投予放射療法之前、同步或之後。此放射治療之給量時程可由熟習的醫師決定。

[0330] 在特定的實施態樣中，治療包含投予本發明的 TIGIT 結合劑與抗病毒療法組合。以 TIGIT 結合劑治療可發生在投予抗病毒療法之前、同步或之後。在組合療法中所使用的抗病毒藥物係取決於個體感染之病毒而定。

[0331] 組合投予可包括以單一醫藥調配物或使用分開的調配物共同投予，或以任何順序連續投予，但是通常在一段期間內，使得所有的活性劑可同時發揮彼等生物活性。

[0332] 應理解本文所述之 TIGIT 結合劑與至少一種額外治療劑之組合可以任何順序投予或同步投予。在一些實施態樣中，將 TIGIT 結合劑投予先前已接受第二治療劑治療之患者。在特定的其他實施態樣中，TIGIT 結合劑與第二治療劑實質上同時或同步投予。例如，個體可在接受第二治療劑(例如化療法)期間同時給予 TIGIT 結合劑。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑係在以第二治療劑治療的 1 年內投予。在特定的可替代實施態樣中，TIGIT 結合劑係在以第二治療劑之任何治療的 10、8、6、4 或 2 個月內投予。在特定的其他實施態樣中，TIGIT 結合劑係在以第二治療劑之任何治療的 4、3、2 或 1 週內投予。在一些實施態樣中，結合劑係在以第二治療劑之任何治療的 5、4、3、2 或 1 天內投予。應進一步理解兩種(或更多種)劑

或治療可在數小時或數分鐘內(亦即實質上同時)投予個體。

[0333] 用於疾病治療之本發明的 TIGIT 結合劑之適當劑量係取決於所欲治療之疾病類型、疾病的嚴重性和病程、疾病的反應性、結合劑是否以治療或預防目的投予、先前治療、患者的臨床病史等等而定，所有皆由主治醫師斟酌。TIGIT 結合劑可投予一次或從數天持續至數月的治療系列投予，或直到完成療效或達到疾病狀態的縮減(例如減少腫瘤大小)。最優化給藥時程可自藥物累積於患者體內的測量值計算，且取決於個別劑之相對效力而改變。投藥醫師可決定最優化劑量、給藥方法及重複頻率。在特定的實施態樣中，劑量為 0.01 微克至 100 毫克/公斤體重，從 0.1 微克至 100 毫克/公斤體重，從 1 微克至 100 毫克/公斤體重，從 1 毫克至 100 毫克/公斤體重，1 毫克至 80 毫克/公斤體重，從 10 毫克至 100 毫克/公斤體重，從 10 毫克至 75 毫克/公斤體重，或從 10 毫克至 50 毫克/公斤體重。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為從約 0.1 毫克至約 20 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑劑量為約 0.5 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為約 1 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為約 1.5 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為約 2 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為約 2.5 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之

劑量為約 5 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為約 7.5 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為約 10 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為約 12.5 毫克/公斤體重。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑之劑量為約 15 毫克/公斤體重。在特定的實施態樣中，劑量可以每天、每週、每月或每年給予一或多次。在特定的實施態樣中，TIGIT 結合劑可以每週給予一次、每兩週給予一次、每三週給予一次或每四週給予一次。

[0334] 在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑可以最初較高的“加載(loading)”劑量投予，隨後以一或多個較低劑量投予。在一些實施態樣中，亦可改變投予頻率。在一些實施態樣中，給藥方案可包含以初始劑量投予，隨後以每周一次、每二周一次、每三周一次或每月一次額外劑量(或“維持”劑量)投予。例如，給藥方案可包含以初始加載劑量投予，隨後以例如一半初始劑量的每周維持劑量投予。或者，給藥方案可包含以初始加載劑量投予，隨後每隔一周以例如一半的初始劑量之維持劑量投予。或者，給藥方案可包含經 3 週投予三次初始劑量，隨後每隔一周以例如相同量的維持劑量投予。

[0335] 如那些熟習本技領域者已知，投予任何治療劑可引起副作用及/或毒性。在一些例子中，副作用及/或毒性非常嚴重以至於無法投予治療有效劑量的特定劑。在一些例子中，藥物療法必須中斷，且可嘗試其他劑。然

而，許多相同治療類別之劑時常展現類似的副作用及/或毒性，意指患者必須停止治療，或若可能，則忍受與治療劑相關聯的之不適副作用。

[0336] 在一些實施態樣中，給藥時程可限制成特定次數的投予或“週期”。在一些實施態樣中，TIGIT 結合劑係經 3、4、5、6、7、8 或更多個週期投予。例如，TIGIT 結合劑係以每 2 週經 6 個週期投予，TIGIT 結合劑係以每 3 週經 6 個週期投予，TIGIT 結合劑係以每 2 週經 4 個週期投予，TIGIT 結合劑係以每 3 週經 4 個週期投予等等。給藥時程可考慮後決定且隨後由那些熟習本技術領域者修改。

[0337] 本發明提供對個體投予本文所述之 TIGIT 結合劑之方法，其包含使用間歇性給藥策略投予一或多種劑，這可降低與投予結合劑、化療劑等等相關聯的副作用及/或毒性。在一些實施態樣中，治療人類個體的癌症之方法包含對個體投予治療有效劑量之結合劑與治療有效劑量之化療劑的組合，其中劑中之一或二者係根據間歇性給藥策略投予。在一些實施態樣中，間歇性給藥策略包含對個體投予初始劑量之結合劑且約每 2 周投予一次結合劑之後續劑量。在一些實施態樣中，間歇性給藥策略包含對個體投予初始劑量之結合劑且約每 3 周投予一次結合劑之後續劑量。在一些實施態樣中，間歇性給藥策略包含對個體投予初始劑量之結合劑且約每 4 周投予一次結合劑之後續劑量。在一些實施態樣中，結合劑係使用間歇性給藥策略

投予及化療劑係每周投予。

[0338] 本發明提供包含本文所述之 TIGIT 結合劑之組成物。本發明亦提供包含本文所述之 TIGIT 結合劑及醫藥上可接受的媒劑之醫藥組成物。在一些實施態樣中，發現醫藥組成物在免疫治療之用途。在一些實施態樣中，發現組成物在抑制腫瘤生長之用途。在一些實施態樣中，發現醫藥組成物在抑制個體(例如人類患者)的腫瘤生長之用途。在一些實施態樣中，發現組成物在治療癌症之用途。在一些實施態樣中，發現醫藥組成物在治療個體(例如人類患者)的癌症之用途。

[0339] 製備用於貯存及藉由組合純化之抗體或本發明的 TIGIT 結合劑與醫藥上可接受的媒劑(例如載劑或賦形劑)而使用之調配物。那些熟習本技術領域者通常考慮成為調配物或醫藥組成物的無活性成分之醫藥上可接受的載劑、賦形劑及/或穩定劑。

[0340] 適合的醫藥上可接受的媒劑包括但不限於無毒性緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他的有機酸；鹽，諸如氯化鈉；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；保存劑，諸如氯化十八烷基二甲基苯甲銨、氯化六氫季銨、氯化苯甲氫銨、氯化苯甲乙氧銨、酚、丁醇或苯甲醇、對氫苯甲酸烷酯(諸如對氫苯甲酸甲酯或對氫苯甲酸丙酯)、兒茶酚、間苯二酚、環己醇、3-戊醇和間甲酚；低分子量多肽(例如少於約 10 個胺基酸殘基)；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸

如聚乙烯基吡咯啉酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸；碳水化合物，諸如單醣、雙醣、葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如 EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；鹽形成之相對離子，諸如鈉；金屬複合物(例如 Zn-蛋白質複合物)；及非離子性界面活性劑，諸如 TWEEN 或聚乙二醇 (PEG)。(Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22st Edition, 2012, Pharmaceutical Press, London)。

[0341] 本發明的醫藥組成物可以任何數種方式經局部或全身性投予。投予可為藉由表皮或透皮貼片、軟膏、洗劑、乳膏、凝膠、滴劑、栓劑、噴劑、液體及粉劑的局部投予；藉由吸入或噴入粉劑或氣霧劑之經肺投予，包括藉由噴霧器、氣管內或鼻內投予；經口；或非經腸，包括靜脈內、動脈內、腫瘤內、皮下、腹膜內、肌肉內(例如注射或輸注)或顱內(例如脊椎鞘內或心室內)。

[0342] 治療調配物可呈單位劑量形式。此等調配物包括錠劑、丸劑、膠囊、粉劑、顆粒、在水或非水性介質中的溶液或懸浮液、或栓劑。在固態組成物中，諸如錠劑，主要活性成分係與醫藥載劑混合。習知的製錠成分包括玉米澱粉、乳糖、蔗糖、山梨醇、滑石、硬脂酸、硬脂酸鎂、磷酸二鈣或膠和稀釋劑(例如水)。該等可用於形成含有本發明化合物或其無毒性之醫藥上可接受的鹽之均勻混合物的固體預調配組成物。固體預調配組成物接著細分

成上述類型之單位劑量型式。可將調配物或組成物的錠劑、丸劑等等可包膜或以其他方式化合，以提供給予延長作用之優點的劑型。例如，錠劑或丸劑可包含以外部組份包覆之內部組成物。此外，兩種組份可以腸溶層分開，腸溶層適合於抵抗崩解且允許內部組份完整通過胃或延遲釋放。可以各種材料用於此等腸溶層或包膜，此等材料包括多種聚合酸及聚合酸與諸如蟲膠、鯨臘醇和乙酸纖維素之材料的混合物。

[0343] 本文所述之 TIGIT 結合劑亦可包封於微膠囊中。此等微膠囊係藉由例如凝聚技術或藉由界面聚合反應來製備，例如分別於膠體藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球、微乳液、奈米粒子和奈米微囊)或於巨乳液中的羥甲基纖維素或明膠微膠囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊，如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22st Edition, 2012, Pharmaceutical Press, London 中所述。

[0344] 在特定的實施態樣中，醫藥調配物包括與脂質體複合之本發明的 TIGIT 結合劑。生產脂質體之方法為那些熟習本技領域者已知。例如，一些脂質體可藉包含磷脂醯膽鹼、膽固醇及 PEG-衍生性磷脂醯乙醇胺(PEG-PE)之脂質組成物的反相蒸發而產生。脂質體可經擠壓通過限定孔徑之過濾器，得到具有所欲直徑之脂質體。

[0345] 在特定的實施態樣中，可生產包含本文所述之 TIGIT 結合劑的持續釋放型製劑。持續釋放型製劑之適合的實例包括含有 TIGIT 結合劑的固相疏水性聚合物之半

透性基質，其中基質係呈成形物件(例如膜或微膠囊)形式。持續釋放型基質的實例包括聚酯、水凝膠(諸如聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)或聚乙烯醇)、聚交酯、L-麩胺酸與7-乙基-L-麩胺酸酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物，諸如 LUPRON DEPOT™ (由乳酸-乙醇酸共聚物及柳菩林(leuprolide acetate)所組成之注射微球)、蔗糖乙酸異丁酸酯和聚-D-(-)-3-羥丁酸。

V.實施態樣

[0346] 在實施態樣 1 中，特異性結合 TIGIT 的細胞外結構域之單離抗體，其包含：(a)包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)或 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO：13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)之重鏈 CDR3；及/或(b)包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO：10)、QASQSNIIYSDLAW (SEQ ID NO：14)或 QASQNIYSKLAW (SEQ ID NO：81)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO：11)或 RASTLAS (SEQ ID NO：15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO：12)或 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO：16)之輕鏈 CDR3。

[0347] 在實施態樣 2 中，實施態樣 1 之抗體包含：(a)包含 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)之重鏈 CDR2

及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9)之重鏈 CDR3 ; 及/或 (b) 包含 QASQSISSYLNW (SEQ ID NO : 10)之輕鏈 CDR1、包含 DALKLAS (SEQ ID NO : 11)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12)之輕鏈 CDR3。

[0348] 在實施態樣 3 中，實施態樣 1 之抗體包含：(a)包含 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO : 13)之重鏈 CDR1、包含 IIGSNGNTYYANWAKG (SQ ID NO:8)之重鏈 CDR2 及包含 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9)之重鏈 CDR3 ; 及/或 (b) 包含 QASQNIYSKLAW (SEQ ID NO : 81)之輕鏈 CDR1、包含 RASTLAS (SEQ ID NO : 15)之輕鏈 CDR2 及包含 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16)之輕鏈 CDR3。

[0349] 在實施態樣 4 中，特異性結合 TIGIT 之單離抗體，其包含：(a)與 SEQ ID NO : 17、SEQ ID NO : 19 或 SEQ ID NO : 32 具有至少 90%之序列一致性的重鏈可變區；及/或(b)與 SEQ ID NO : 18 或 SEQ ID NO : 20 具有至少 90%之序列一致性的輕鏈可變區。

[0350] 在實施態樣 5 中，實施態樣 1 至 4 中任一者之抗體包含：(a)與 SEQ ID NO : 17、SEQ ID NO : 19 或 SEQ ID NO : 32 具有至少 95%之序列一致性的重鏈可變區；及/或(b)與 SEQ ID NO : 18 或 SEQ ID NO : 20 具有至少 95%之序列一致性的輕鏈可變區。

[0351] 在實施態樣 6 中，實施態樣 5 之抗體包含：(a)包含 SEQ ID NO : 17 之重鏈可變區；及(b)包含 SEQ ID NO : 18 之輕鏈可變區。

[0352] 在實施態樣 7 中，實施態樣 5 之抗體包含：
(a)包含 SEQ ID NO：19 之重鏈可變區；及(b)包含 SEQ ID NO：20 之輕鏈可變區。

[0353] 在實施態樣 8 中，實施態樣 5 之抗體包含：
(a)包含 SEQ ID NO：32 之重鏈可變區；及(b)包含 SEQ ID NO：20 之輕鏈可變區。

[0354] 在實施態樣 9 中，實施態樣 1 至 8 中任一者之抗體為單克隆抗體。

[0355] 在實施態樣 10 中，實施態樣 1 至 9 中任一者之抗體為人源化抗體。

[0356] 在實施態樣 11 中，實施態樣 1 至 10 中任一者之抗體為人類抗體。

[0357] 在實施態樣 12 中，根據實施態樣 1 至 10 中任一者之抗體為重組抗體或嵌合抗體。

[0358] 在實施態樣 13 中，實施態樣 1 至 12 中任一者之抗體為雙特異性抗體。

[0359] 在實施態樣 14 中，實施態樣 1 至 13 中任一者之抗體為包含抗原結合部位之抗體片段。

[0360] 在實施態樣 15 中，實施態樣 1 至 13 中任一者之抗體為 IgG 抗體。

[0361] 在實施態樣 16 中，實施態樣 15 之抗體為 IgG1 抗體、IgG2 抗體或 IgG4 抗體。

[0362] 在實施態樣 17 中，抗體包含(a)選自由下列所組成之群組的重鏈胺基酸序列：SEQ ID NO：26、SEQ ID

NO : 27、SEQ ID NO : 29、SEQ ID NO : 34 和 SEQ ID NO : 56 ; 及(b)選自由下列所組成之群組的輕鏈胺基酸序列 : SEQ ID NO : 28 和 SEQ ID NO : 30 。

[0363] 在實施態樣 18 中，實施態樣 17 之抗體包含 SEQ ID NO : 26 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO : 28 之輕鏈胺基酸序列。

[0364] 在實施態樣 19 中，實施態樣 17 之抗體包含 SEQ ID NO : 27 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO : 28 之輕鏈胺基酸序列。

[0365] 在實施態樣 20 中，實施態樣 17 之抗體包含 SEQ ID NO : 29 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO : 30 之輕鏈胺基酸序列。

[0366] 在實施態樣 21 中，實施態樣 17 之抗體包含 SEQ ID NO : 34 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO : 30 之輕鏈胺基酸序列。

[0367] 在實施態樣 22 中，實施態樣 17 之抗體包含 SEQ ID NO : 56 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO : 30 之輕鏈胺基酸序列。

[0368] 在實施態樣 23 中，抗體包含來自選自由下列所組成之群組的抗體之重鏈可變區和輕鏈可變區 : 313R11、313R12、313R14、313R19 和 313R20 。

[0369] 在實施態樣 24 中，抗體係選自由下列所組成之群組 : 313R11、313R12、313R14、313R19 和 313R20 。

[0370] 在實施態樣 25 中，抗體包含由寄存於 ATCC

編號為 PTA-122180 之質體編碼的重鏈可變區。

[0371] 在實施態樣 26 中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122181 之質體編碼的輕鏈可變區。

[0372] 在實施態樣 27 中，抗體包含多肽，該多肽包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122180 之質體編碼的重鏈可變區。

[0373] 在實施態樣 28 中，抗體包含多肽，該多肽包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122181 之質體編碼的輕鏈可變區。

[0374] 在實施態樣 29 中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122180 之質體編碼的重鏈可變區和由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122181 之質體編碼的輕鏈可變區。

[0375] 在實施態樣 30 中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122180 之質體和由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122181 之質體編碼的多肽。

[0376] 在實施態樣 31 中，單離抗體與實施態樣 1 至 30 中任一者之抗體競爭與 TIGIT 特異性結合。

[0377] 在實施態樣 32 中，單離抗體與實施態樣 1 至 30 中任一者之抗體結合 TIGIT 之相同的抗原決定區。

[0378] 在實施態樣 33 中，單離抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，該抗原決定區與實施態樣 1 至 30 中任一者之抗體結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。

[0379] 在實施態樣 34 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其抑制 TIGIT 與脊髓灰白質病毒受體(PVR)結

合。

[0380] 在實施態樣 35 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其抑制或阻斷 TIGIT 與 PVR 之間的交互作用。

[0381] 在實施態樣 36 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其抑制 TIGIT 傳訊。

[0382] 在實施態樣 37 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其為經 TIGIT 媒介之傳訊的拮抗劑。

[0383] 在實施態樣 38 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其抑制 TIGIT 活化。

[0384] 在實施態樣 39 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其抑制 TIGIT 之磷酸化。

[0385] 在實施態樣 40 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其降低 TIGIT 之細胞表面表現。

[0386] 在實施態樣 41 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其誘發及/或增強免疫反應。

[0387] 在實施態樣 42 中，實施態樣 41 之抗體，其中免疫反應係針對腫瘤或腫瘤細胞。

[0388] 在實施態樣 43 中，實施態樣 41 之抗體，其中免疫反應係針對病毒或病毒感染細胞。

[0389] 在實施態樣 44 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其增加細胞媒介之免疫力。

[0390] 在實施態樣 45 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其增加 T 細胞活性。

[0391] 在實施態樣 46 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其增加溶胞性 T 細胞(CTL)活性。

[0392] 在實施態樣 47 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其增加自然殺手(NK)細胞活性。

[0393] 在實施態樣 48 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其增加 IL-2 生產及/或 IL-2 生產細胞的數目。

[0394] 在實施態樣 49 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其增加 IFN- γ 生產及/或 IFN- γ 生產細胞的數目。

[0395] 在實施態樣 50 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其增強 Th1 型免疫反應。

[0396] 在實施態樣 51 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其降低 IL-4 生產及/或 IL-4 生產細胞的數目。

[0397] 在實施態樣 52 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其降低 IL-10 及/或 IL-10 生產細胞的數目。

[0398] 在實施態樣 53 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其降低 Th2 型免疫反應。

[0399] 在實施態樣 54 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其抑制及/或降低調節性 T 細胞(Treg)之抑制活性。

[0400] 在實施態樣 55 中，實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體，其抑制及/或降低骨髓衍生性抑制細胞(MDSC)之抑制活性。

[0401] 在實施態樣 56 中，實施態樣 1 至 55 中任一

者之抗體，其抑制腫瘤生長。

[0402] 在實施態樣 57 中，異質二聚體劑包含實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體。

[0403] 在實施態樣 58 中，雙特異性劑包含 a)特異性結合 TIGIT 之第一臂，及 b)第二臂，其中第一臂包含實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體。

[0404] 在實施態樣 59 中，實施態樣 58 之雙特異性劑，其中第二臂包含來自抗體的抗原結合部位。

[0405] 在實施態樣 60 中，實施態樣 58 之雙特異性劑，其中第二臂特異性結合 PD-1、PD-L1、CTLA4、TIM-3、LAG-3、OX-40 或 GITR。

[0406] 在實施態樣 61 中，實施態樣 58 之雙特異性劑，其中第二臂特異性結合腫瘤抗原。

[0407] 在實施態樣 62 中，實施態樣 58 之雙特異性劑，其中第二臂包含免疫反應刺激劑。

[0408] 在實施態樣 63 中，實施態樣 62 之雙特異性劑，其中免疫反應刺激劑係選自由下列所組成之群組：顆粒細胞-巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬細胞集落刺激因子(M-CSF)、顆粒細胞集落刺激因子(G-CSF)、介白素 2 (IL-2)、介白素 3 (IL-3)、介白素 12 (IL-12)、介白素 15 (IL-15)、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40L、抗 CD3 抗體、抗 CTLA4 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 GITR 抗體、抗 OX-40 抗體、抗 LAG-3 抗體和抗 TIM-3 抗體。

[0409] 在實施態樣 64 中，實施態樣 58 至 63 中任一者之雙特異性劑，其中第一臂包含第一 CH3 結構域及第二臂包含第二 CH3 結構域，各 CH3 結構域經修飾以促進異質二聚體的形成。

[0410] 在實施態樣 65 中，實施態樣 64 之雙特異性劑，其中第一及第二 CH3 結構域係建基於靜電效應而修飾。

[0411] 在實施態樣 66 中，實施態樣 58 至 63 中任一者之雙特異性劑，其中第一臂包含在對應於 SEQ ID NO：41 之位置 253 和 292 上具有胺基酸取代之第一人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸係經麩胺酸或天冬胺酸取代，及第二臂包含在對應於 SEQ ID NO：41 之位置 240 和 282 上具有胺基酸取代之第二人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸係經離胺酸取代。

[0412] 在實施態樣 67 中，實施態樣 58 至 63 中任一者之雙特異性劑，其中第一臂包含在對應於 SEQ ID NO：41 之位置 240 和 282 上具有胺基酸取代之第一人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸係經離胺酸取代，及第二臂包含在對應於 SEQ ID NO：41 之位置 253 和 292 上具有胺基酸取代之第二人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸係經麩胺酸或天冬胺酸取代。

[0413] 在實施態樣 68 中，實施態樣 58 至 63 中任一者之雙特異性劑，其中第一臂包含在對應於 SEQ ID NO：42 之位置 249 和 288 上具有胺基酸取代之第一人類 IgG2

恆定區，其中胺基酸係經麩胺酸或天冬胺酸取代，及第二臂包含在對應於 SEQ ID NO：42 之位置 236 和 278 上具有胺基酸取代之第二人類 IgG2 恆定區，其中胺基酸係經離胺酸取代。

[0414] 在實施態樣 69 中，實施態樣 58 至 63 中任一者之雙特異性劑，其中第一臂包含在對應於 SEQ ID NO：42 之位置 236 和 278 上具有胺基酸取代之第一人類 IgG2 恆定區，其中胺基酸係經離胺酸取代，及第二臂包含在對應於 SEQ ID NO：42 之位置 249 和 288 上具有胺基酸取代之第二人類 IgG2 恆定區，其中胺基酸係經麩胺酸或天冬胺酸取代。

[0415] 在實施態樣 70 中，實施態樣 64 之雙特異性劑，其中第一及第二 CH3 結構域係使用孔中突點技術修飾。

[0416] 在實施態樣 71 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其抑制 TIGIT 與 PVR 結合。

[0417] 在實施態樣 72 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其抑制或阻斷 TIGIT 與 PVR 之間的交互作用。

[0418] 在實施態樣 73 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其抑制 TIGIT 傳訊。

[0419] 在實施態樣 74 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其為經 TIGIT 媒介之傳訊的拮抗劑。

[0420] 在實施態樣 75 中，實施態樣 58 至 70 中任一

者之雙特異性劑，其抑制 TIGIT 活化。

[0421] 在實施態樣 76 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其抑制 TIGIT 之磷酸化。

[0422] 在實施態樣 77 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其降低 TIGIT 之細胞表面表現。

[0423] 在實施態樣 78 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其誘發及/或增強免疫反應。

[0424] 在實施態樣 79 中，實施態樣 78 之雙特異性劑，其中免疫反應係針對腫瘤或腫瘤細胞。

[0425] 在實施態樣 80 中，實施態樣 78 之雙特異性劑，其中免疫反應係針對病毒或病毒感染細胞。

[0426] 在實施態樣 81 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其增加細胞媒介之免疫力。

[0427] 在實施態樣 82 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其增加 T 細胞活性。

[0428] 在實施態樣 83 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其增加 CTL 活性。

[0429] 在實施態樣 84 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其增加 NK 細胞活性。

[0430] 在實施態樣 85 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其增加 IL-2 生產及/或 IL-2 生產細胞的數目。

[0431] 在實施態樣 86 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其增加 IFN- γ 生產及/或 IFN- γ 生產細胞

的數目。

[0432] 在實施態樣 87 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其增強 Th1 型免疫反應。

[0433] 在實施態樣 88 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其降低 IL-4 生產及/或 IL-4 生產細胞的數目。

[0434] 在實施態樣 89 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其降低 IL-10 及/或 IL-10 生產細胞的數目。

[0435] 在實施態樣 90 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其降低 Th2 型免疫反應。

[0436] 在實施態樣 91 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其抑制及/或降低 Treg 之抑制活性。

[0437] 在實施態樣 92 中，實施態樣 58 至 70 中任一者之雙特異性劑，其抑制及/或降低 MDSC 之抑制活性。

[0438] 在實施態樣 93 中，實施態樣 58 至 92 中任一者之雙特異性劑，其抑制腫瘤生長。

[0439] 在實施態樣 94 中，多肽包含選自由下列所組成之群組的序列：SEQ ID NO：17、SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：19、SEQ ID NO：20、SEQ ID NO：21、SEQ ID NO：22、SEQ ID NO：23、SEQ ID NO：24、SEQ ID NO：25、SEQ ID NO：26、SEQ ID NO：27、SEQ ID NO：28、SEQ ID NO：29、SEQ ID NO：30、SEQ ID NO：32、SEQ ID NO：33、SEQ ID NO：34、

SEQ ID NO : 55 和 SEQ ID NO : 56 。

[0440] 在實施態樣 95 中，細胞包含或生產實施態樣 1 至 94 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0441] 在實施態樣 96 中，組成物包含實施態樣 1 至 94 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0442] 在實施態樣 97 中，醫藥組成物包含實施態樣 1 至 94 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽及醫藥上可接受的載劑。

[0443] 在實施態樣 98 中，單離多核苷酸分子包含編碼實施態樣 1 至 94 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽之多核苷酸。

[0444] 在實施態樣 99 中，載體包含實施態樣 98 之多核苷酸。

[0445] 在實施態樣 100 中，單離細胞包含實施態樣 98 之多核苷酸或實施態樣 99 之載體。

[0446] 在實施態樣 101 中，誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法，其包含投予治療有效量的實施態樣 1 至 94 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0447] 在實施態樣 102 中，誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法，其包含投予治療有效量的實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體。

[0448] 在實施態樣 103 中，實施態樣 101 或實施態樣 102 之方法，其中免疫反應係對抗腫瘤或癌。

[0449] 在實施態樣 104 中，抑制腫瘤細胞生長之方法，其中該方法包含將腫瘤細胞與有效量的實施態樣 1 至 94 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽接觸。

[0450] 在實施態樣 105 中，抑制個體的腫瘤生長之方法，其中該方法包含對個體投予治療有效量的實施態樣 1 至 94 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0451] 在實施態樣 106 中，抑制個體的腫瘤生長之方法，其中該方法包含對個體投予治療有效量的實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體。

[0452] 在實施態樣 107 中，實施態樣 103 至 106 中任一者之方法，其中腫瘤或腫瘤細胞係選自由下列所組成之群組：結腸直腸腫瘤、卵巢腫瘤、胰腫瘤、肺腫瘤、肝腫瘤、乳房腫瘤、腎腫瘤、前列腺腫瘤、胃腸道腫瘤、黑色素瘤、子宮頸腫瘤、膀胱腫瘤、神經膠質母細胞瘤和頭與頸腫瘤。

[0453] 在實施態樣 108 中，治療個體的癌症之方法，其中該方法包含對個體投予治療有效量的實施態樣 1 至 94 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0454] 在實施態樣 109 中，治療個體的癌症之方法，其中該方法包含對個體投予治療有效量的實施態樣 1 至 33 中任一者之抗體。

[0455] 在實施態樣 110 中，實施態樣 108 或實施態樣 109 之方法，其中癌症係選自由下列所組成之群組：結腸直腸癌、卵巢癌、胰臟癌、肺癌、肝癌、乳癌、腎臟

癌、前列腺癌、胃腸道癌、黑色素瘤、子宮頸癌、膀胱癌、神經膠質母細胞瘤和頭與頸癌。

[0456] 在實施態樣 111 中，實施態樣 101 至 100 中任一者之方法，其另外包含投予至少一種額外治療劑。

[0457] 在實施態樣 112 中，實施態樣 111 之方法，其中額外治療劑為化療劑。

[0458] 在實施態樣 113 中，實施態樣 111 之方法，其中額外治療劑為抗體。

[0459] 在實施態樣 114 中，實施態樣 111 之方法，其中額外治療劑為抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 CTLA4 抗體、抗 LAG-3 抗體、或抗 TIM-3 抗體。

[0460] 在實施態樣 115 中，實施態樣 111 之方法，其中額外治療劑為免疫反應刺激劑。

[0461] 在實施態樣 116 中，實施態樣 115 之方法，其中免疫反應刺激劑係選自由下列所組成之群組：GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-2、IL-3、IL-12、IL-15、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40 配體、抗 CD3 抗體、抗 CTLA4 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 GITR 抗體、抗 OX-40 抗體、抗 LAG-3 抗體和抗 TIM-3 抗體。

[0462] 在實施態樣 117 中，實施態樣 111 之方法，其中額外治療劑為 Notch 途徑、Wnt 途徑或 RSPO/LGR 途徑之抑制劑。

[0463] 在實施態樣 118 中，實施態樣 101 至 103 或

105 至 117 中任一者之方法，其中個體為人類。

[0464] 在實施態樣 119 中，實施態樣 101 至 103 或 105 至 118 中任一者之方法，其中個體具有腫瘤或移除之癌。

[0465] 在實施態樣 120 中，實施態樣 101 至 119 中任一者之方法，其中腫瘤或癌表現 PD-L1。

[0466] 在實施態樣 121 中，實施態樣 101 至 120 中任一者之方法，其另外包含測定腫瘤或癌中的 PD-L1 表現量之步驟。

[0467] 在實施態樣 122 中，實施態樣 121 之方法，其中測定 PD-L1 表現量係在治療或與抗體接觸之前進行。

[0468] 在實施態樣 123 中，實施態樣 121 或實施態樣 122 之方法，其中若腫瘤或癌具有上升的 PD-L1 表現量，則將抗體、雙特異性劑或多肽：(a)投予個體；或(b)與腫瘤或腫瘤細胞接觸。

[0469] 在實施態樣 124 中，寄存於 ATCC 且分配之指定編號為 PTA-122180 之質體。

[0470] 在實施態樣 125 中，寄存於 ATCC 且分配之指定編號為 PTA-122181 之質體。

[0471] 在實施態樣 126 中，特異性結合人類 TIGIT 的細胞外結構域之單離抗體，其包含：(a)包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57)之重鏈 CDR1、包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO：58)之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO：59)之重鏈 CDR3；及/

或 (b) 包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO : 60) 之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO : 61) 之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO : 62) 之輕鏈 CDR3。

[0472] 在實施態樣 127 中，特異性結合人類 TIGIT 之單離抗體，其包含：(a) 與 SEQ ID NO : 63 或 SEQ ID NO : 67 具有至少 90% 之序列一致性的重鏈可變區；及/或 (b) 與 SEQ ID NO : 64 或 SEQ ID NO : 68 具有至少 90% 之序列一致性的輕鏈可變區。

[0473] 在實施態樣 128 中，實施態樣 126 或實施態樣 127 之抗體，其包含：(a) 與 SEQ ID NO : 63 或 SEQ ID NO : 67 具有至少 95% 之序列一致性的重鏈可變區；及/或 (b) 與 SEQ ID NO : 64 或 SEQ ID NO : 68 具有至少 95% 之序列一致性的輕鏈可變區。

[0474] 在實施態樣 129 中，實施態樣 128 之抗體，其包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO : 63 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO : 64。

[0475] 在實施態樣 130 中，實施態樣 128 之抗體，其包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO : 67 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO : 68。

[0476] 在實施態樣 131 中，實施態樣 126 至 130 中任一者之抗體，其為單克隆抗體。

[0477] 在實施態樣 132 中，實施態樣 126 至 128、130 或 131 中任一者之抗體，其為人源化抗體。

[0478] 在實施態樣 133 中，實施態樣 126 之抗體，

其為人類抗體。

[0479] 在實施態樣 134 中，實施態樣 126 至 133 中任一者之抗體，其為重組抗體或嵌合抗體。

[0480] 在實施態樣 135 中，實施態樣 126 至 134 中任一者之抗體，其為雙特異性抗體。

[0481] 在實施態樣 136 中，實施態樣 126 至 135 中任一者之抗體，其為包含抗原結合部位之抗體片段。

[0482] 在實施態樣 137 中，實施態樣 126 至 136 中任一者之抗體，其為 IgG 抗體。

[0483] 在實施態樣 138 中，實施態樣 137 之抗體，其為 IgG1 抗體、IgG2 抗體或 IgG4 抗體。

[0484] 在實施態樣 139 中，抗體包含 SEQ ID NO：70 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO：72 之輕鏈胺基酸序列。

[0485] 在實施態樣 140 中，抗體包含與抗體 313M32 相同的重鏈可變區和輕鏈可變區胺基酸序列。

[0486] 在實施態樣 141 中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122346 之質體編碼的重鏈可變區。

[0487] 在實施態樣 143 中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的輕鏈可變區。

[0488] 在實施態樣 143 中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的輕鏈。

[0489] 在實施態樣 144 中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122346 之質體編碼的重鏈可變區和由寄存於

ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的輕鏈可變區。

[0490] 在實施態樣 145 中，抗體包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122346 之質體編碼的重鏈可變區和由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的輕鏈。

[0491] 在實施態樣 146 中，實施態樣 126 至 145 中任一者之抗體，其不結合：(a)小鼠 TIGIT；(b)大鼠 TIGIT；(c)食蟹獼猴 TIGIT；及/或(d)恆河猴 TIGIT。

[0492] 在實施態樣 147 中，單離抗體與實施態樣 126 至 146 中任一者之抗體競爭與 TIGIT 特異性結合。

[0493] 在實施態樣 148 中，單離抗體與實施態樣 126 至 146 中任一者之抗體結合 TIGIT 之相同的抗原決定區。

[0494] 在實施態樣 149 中，單離抗體結合 TIGIT 的抗原決定區，該抗原決定區與實施態樣 126 至 146 中任一者之抗體結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。

[0495] 在實施態樣 150 中，特異性結合人類 TIGIT 之單離抗體，其中抗體結合抗原決定區，該抗原決定區包含：(a)在 SEQ ID NO：79 內之胺基酸；(b)在 SEQ ID NO：80 內之胺基酸；(c)在 SEQ ID NO：79 及 SEQ ID NO：80 內之胺基酸；(d) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62 和 I109；(e) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62 和 T119；(f) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q64 和 I109；(g) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q64 和 T119；(h) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62、Q64 和 I109；(i) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62、Q64 和 T119；(j) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62、I109 和 T119；

(k) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q64、I109 和 T119；或(l) SEQ ID NO：4 之胺基酸 Q62、Q64、I109 和 T119。

[0496] 在實施態樣 151 中，實施態樣 150 之抗體，其中抗體結合包含在 SEQ ID NO：79 及 SEQ ID NO：80 內之胺基酸的抗原決定區。

[0497] 在實施態樣 152 中，實施態樣 150 之抗體，其中抗體結合抗原決定區，該抗原決定區包含下列中之至少一者：SEQ ID NO：4 的胺基酸 N58、E60、Q62、Q64、L65、F107、I109、H111、T117、T119 和 G120。

[0498] 在實施態樣 153 中，實施態樣 150 至 152 中任一者之抗體，其中抗原決定區為構形抗原決定區。

[0499] 在實施態樣 154 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其抑制 TIGIT 與脊髓灰白質病毒受體 (PVR)結合。

[0500] 在實施態樣 155 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其抑制或阻斷 TIGIT 與 PVR 之間的交互作用。

[0501] 在實施態樣 156 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其抑制 TIGIT 傳訊。

[0502] 在實施態樣 157 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其為經 TIGIT 媒介之傳訊的拮抗劑。

[0503] 在實施態樣 158 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其抑制 TIGIT 活化。

[0504] 在實施態樣 159 中，實施態樣 126 至 153 中

任一者之抗體，其抑制 TIGIT 之磷酸化。

[0505] 在實施態樣 160 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其降低 TIGIT 之細胞表面表現。

[0506] 在實施態樣 161 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其誘發及/或增強免疫反應。

[0507] 在實施態樣 162 中，實施態樣 161 之抗體，其中免疫反應係針對腫瘤或腫瘤細胞。

[0508] 在實施態樣 163 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其增加細胞媒介之免疫力。

[0509] 在實施態樣 164 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其增加 T 細胞活性。

[0510] 在實施態樣 165 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其增加溶胞性 T 細胞(CTL)活性。

[0511] 在實施態樣 166 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其增加自然殺手(NK)細胞活性。

[0512] 在實施態樣 167 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其增加 IL-2 生產及/或 IL-2 生產細胞的數目。

[0513] 在實施態樣 168 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其增加 IFN- γ 生產及/或 IFN- γ 生產細胞的數目。

[0514] 在實施態樣 169 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其增強 Th1 型免疫反應。

[0515] 在實施態樣 170 中，實施態樣 126 至 153 中

任一者之抗體，其降低 IL-4 生產及/或 IL-4 生產細胞的數目。

[0516] 在實施態樣 171 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其降低 IL-10 生產及/或 IL-10-生產細胞的數目。

[0517] 在實施態樣 172 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其降低 Th2 型免疫反應。

[0518] 在實施態樣 173 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其抑制及/或降低調節性 T 細胞(Treg)之抑制活性。

[0519] 在實施態樣 174 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其抑制及/或降低骨髓衍生性抑制細胞(MDSC)之抑制活性。

[0520] 在實施態樣 175 中，實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體，其抑制腫瘤生長。

[0521] 在實施態樣 176 中，異質二聚體劑包含實施態樣 126 至 146 中任一者之抗體。

[0522] 在實施態樣 177 中，雙特異性劑包含：a)特異性結合 TIGIT 之第一臂，及 b)第二臂，其中第一臂包含實施態樣 126 至 146 中任一者之抗體。

[0523] 在實施態樣 178 中，實施態樣 177 之雙特異性劑，其中第二臂包含來自抗體的抗原結合部位。

[0524] 在實施態樣 179 中，實施態樣 177 之雙特異性劑，其中第二臂特異性結合 PD-1、PD-L1、CTLA-4、

TIM-3、LAG-3、OX-40 或 GITR。

[0525] 在實施態樣 180 中，實施態樣 177 之雙特異性劑，其中第二臂特異性結合腫瘤抗原。

[0526] 在實施態樣 181 中，實施態樣 177 之雙特異性劑，其中第二臂包含免疫治療劑。

[0527] 在實施態樣 182 中，實施態樣 181 之雙特異性劑，其中免疫治療劑係選自由下列所組成之群組：顆粒細胞-巨噬細胞集落刺激因子(GM-CSF)、巨噬細胞集落刺激因子(M-CSF)、顆粒細胞集落刺激因子(G-CSF)、介白素 2 (IL-2)、介白素 3 (IL-3)、介白素 12 (IL-12)、介白素 15 (IL-15)、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40L、抗 CD3 抗體、抗 CTLA4 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 GITR 抗體、抗 OX-40 抗體、抗 4-1BB 抗體、抗 LAG-3 抗體和抗 TIM-3 抗體。

[0528] 在實施態樣 183 中，實施態樣 177 至 182 中任一者之雙特異性劑，其中第一臂包含第一 CH3 結構域及第二臂包含第二 CH3 結構域，各 CH3 結構域經修飾以促進異質二聚體的形成。

[0529] 在實施態樣 184 中，實施態樣 183 之雙特異性劑，其中第一及第二 CH3 結構域係建基於靜電效應而修飾。

[0530] 在實施態樣 185 中，實施態樣 177 至 182 中任一者之雙特異性劑，其中第一臂包含在對應於 SEQ ID NO: 41 之位置 253 和 292 上具有胺基酸取代之第一人類

IgG1 恆定區，其中胺基酸係經麩胺酸或天冬胺酸取代，及第二臂包含在對應於 SEQ ID NO：41 之位置 240 和 282 上具有胺基酸取代之第二人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸係經離胺酸取代。

[0531] 在實施態樣 186 中，實施態樣 177 至 182 中任一者之雙特異性劑，其中第一臂包含在對應於 SEQ ID NO：41 之位置 240 和 282 上具有胺基酸取代之第一人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸係經離胺酸取代，及第二臂包含在對應於 SEQ ID NO：41 之位置 253 和 292 上具有胺基酸取代之第二人類 IgG1 恆定區，其中胺基酸係經麩胺酸或天冬胺酸取代。

[0532] 在實施態樣 187 中，實施態樣 183 之雙特異性劑，其中第一及第二 CH3 結構域係使用孔中突點技術修飾。

[0533] 在實施態樣 188 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其抑制 TIGIT 與 PVR 結合。

[0534] 在實施態樣 189 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其抑制或阻斷 TIGIT 與 PVR 之間的交互作用。

[0535] 在實施態樣 190 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其抑制 TIGIT 傳訊。

[0536] 在實施態樣 191 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其為經 TIGIT 媒介之傳訊的拮抗劑。

[0537] 在實施態樣 192 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其抑制 TIGIT 活化。

[0538] 在實施態樣 193 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其抑制 TIGIT 之磷酸化。

[0539] 在實施態樣 194 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其降低 TIGIT 之細胞表面表現。

[0540] 在實施態樣 195 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其誘發及/或增強免疫反應。

[0541] 在實施態樣 196 中，實施態樣 195 之雙特異性劑，其中免疫反應係針對腫瘤或腫瘤細胞。

[0542] 在實施態樣 197 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其增加細胞媒介之免疫力。

[0543] 在實施態樣 198 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其增加 T 細胞活性。

[0544] 在實施態樣 199 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其增加 CTL 活性。

[0545] 在實施態樣 200 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其增加 NK 細胞活性。

[0546] 在實施態樣 201 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其增加 IL-2 生產及/或 IL-2 生產細胞的數目。

[0547] 在實施態樣 202 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其增加 IFN- γ 生產及/或 IFN- γ 生產細胞的數目。

[0548] 在實施態樣 203 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其增強 Th1 型免疫反應。

[0549] 在實施態樣 204 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其降低 IL-4 生產及/或 IL-4 生產細胞的數目。

[0550] 在實施態樣 205 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其降低 IL-10 生產及/或 IL-10-生產細胞的數目。

[0551] 在實施態樣 206 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其降低 Th2 型免疫反應。

[0552] 在實施態樣 207 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其抑制及/或降低 Treg 之抑制活性。

[0553] 在實施態樣 208 中，實施態樣 177 至 187 中任一者之雙特異性劑，其抑制及/或降低 MDSC 之抑制活性。

[0554] 在實施態樣 209 中，實施態樣 177 至 208 中任一者之雙特異性劑，其抑制腫瘤生長。

[0555] 在實施態樣 210 中，多肽包含選自由下列所組成之群組的序列：SEQ ID NO：63、SEQ ID NO：64、SEQ ID NO：67、SEQ ID NO：68、SEQ ID NO：69、SEQ ID NO：70、SEQ ID NO：71、SEQ ID NO：72 和 SEQ ID NO：82。

[0556] 在實施態樣 211 中，細胞包含或生產實施態

樣 126 至 210 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0557] 在實施態樣 212 中，組成物包含實施態樣 126 至 210 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0558] 在實施態樣 213 中，醫藥組成物包含實施態樣 126 至 210 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽及醫藥上可接受的載劑。

[0559] 在實施態樣 214 中，單離多核苷酸分子包含編碼實施態樣 126 至 210 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽之多核苷酸。

[0560] 在實施態樣 215 中，單離多核苷酸包含選自由下列所組成之群組的多核苷酸序列：SEQ ID NO：65、SEQ ID NO：66、SEQ ID NO：73、SEQ ID NO：74、SEQ ID NO：75 和 SEQ ID NO：76。

[0561] 在實施態樣 216 中，載體包含實施態樣 214 或實施態樣 215 之多核苷酸。

[0562] 在實施態樣 217 中，單離細胞包含實施態樣 214 或實施態樣 215 之多核苷酸。

[0563] 在實施態樣 218 中，單離細胞包含實施態樣 216 之載體。

[0564] 在實施態樣 219 中，誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之方法，其包含投予治療有效量的實施態樣 126 至 210 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0565] 在實施態樣 220 中，誘發、活化、促進、增

強、提高或延長個體的免疫反應之方法，其包含投予治療有效量的實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體。

[0566] 在實施態樣 221 中，實施態樣 219 或實施態樣 220 之方法，其中免疫反應係對抗腫瘤或癌症。

[0567] 在實施態樣 222 中，抑制腫瘤細胞生長之方法，其中該方法包含將腫瘤細胞與有效量的實施態樣 126 至 210 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽接觸。

[0568] 在實施態樣 223 中，抑制個體的腫瘤生長之方法，其中該方法包含對個體投予治療有效量的實施態樣 126 至 210 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0569] 在實施態樣 224 中，抑制個體的腫瘤生長之方法，其中該方法包含對個體投予治療有效量的實施態樣 126 至 153 中任一者之抗體。

[0570] 在實施態樣 225 中，實施態樣 221 至 224 中任一者之方法，其中腫瘤或腫瘤細胞係選自由下列所組成之群組：結腸直腸腫瘤、卵巢腫瘤、胰腫瘤、肺腫瘤、肝腫瘤、乳房腫瘤、腎腫瘤、前列腺腫瘤、胃腸道腫瘤、黑色素瘤、子宮頸腫瘤、膀胱腫瘤、神經膠質母細胞瘤和頭與頸腫瘤。

[0571] 在實施態樣 226 中，治療個體的癌症之方法，其中該方法包含對個體投予治療有效量的實施態樣 126 至 210 中任一者之抗體、雙特異性劑或多肽。

[0572] 在實施態樣 227 中，治療個體的癌症之方法，其中該方法包含對個體投予治療有效量的實施態樣

126 至 153 中任一者之抗體。

[0573] 在實施態樣 228 中，實施態樣 226 或實施態樣 227 之方法，其中癌症係選自由下列所組成之群組：結腸直腸癌、卵巢癌、胰臟癌、肺癌、肝癌、乳癌、腎臟癌、前列腺癌、胃腸道癌、黑色素瘤、子宮頸癌、膀胱癌、神經膠質母細胞瘤和頭與頸癌。

[0574] 在實施態樣 229 中，實施態樣 219 至 228 中任一者之方法，其另外包含投予至少一種額外治療劑。

[0575] 在實施態樣 230 中，實施態樣 229 之方法，其中額外治療劑為化療劑。

[0576] 在實施態樣 231 中，實施態樣 229 之方法，其中額外治療劑為抗體。

[0577] 在實施態樣 232 中，實施態樣 229 之方法，其中額外治療劑為免疫治療劑。

[0578] 在實施態樣 233 中，實施態樣 232 之方法，其中免疫治療劑係選自由下列所組成之群組：GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-2、IL-3、IL-12、IL-15、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40 配體、抗 CD3 抗體、抗 CTLA-4 抗體、抗 PD-1 抗體、抗 PD-L1 抗體、抗 GITR 抗體、抗 OX-40 抗體、抗 4-1BB 抗體、抗 LAG-3 抗體和抗 TIM-3 抗體。

[0579] 在實施態樣 234 中，實施態樣 229 之方法，其中額外治療劑為 Notch 途徑、Wnt 途徑或 RSPO/LGR 途徑之抑制劑。

[0580] 在實施態樣 235 中，實施態樣 219 至 221 或 223 至 234 中任一者之方法，其中個體已患有移除之腫瘤或癌。

[0581] 在實施態樣 236 中，實施態樣 221 至 235 中任一者之方法，其中腫瘤或癌症表現 PD-L1。

[0582] 在實施態樣 237 中，實施態樣 221 至 236 中任一者之方法，其另外包含測定腫瘤或癌中的 PD-L1 表現量之步驟。

[0583] 在實施態樣 238 中，實施態樣 237 之方法，其中測定 PD-L1 表現量係在以抗體治療或接觸之前進行。

[0584] 在實施態樣 239 中，實施態樣 236 或實施態樣 237 之方法，其中若腫瘤或癌具有上升的 PD-L1 表現量，將抗體、雙特異性劑或多肽：(a)投予個體；或(b)與腫瘤或腫瘤細胞接觸。

[0585] 在實施態樣 240 中，質體係寄存於 ATCC 且編號為 PTA-122346。

[0586] 在實施態樣 241 中，質體係寄存於 ATCC 且編號為 PTA-122347。

VI.篩選

[0587] 本發明提供鑑別調節免疫反應的 TIGIT 結合劑之篩選方法。在一些實施態樣中，本發明提供篩選調節免疫反應的候選劑之方法，該劑包括但不限於多肽、抗體、肽、擬肽、小分子、化合物或其他藥物。

[0588] 在一些實施態樣中，篩選用於調節免疫反應的候選 TIGIT 結合劑之方法包含測定該劑對免疫細胞是否有影響。在一些實施態樣中，篩選用於調節免疫反應的候選 TIGIT 結合劑之方法包含測定該劑是否能夠增加免疫細胞活性。在一些實施態樣中，篩選用於調節免疫反應的候選 TIGIT 結合劑之方法包含測定該劑是否能夠增加溶胞性細胞(諸如 CTL 及/或 NK 細胞)之活性。在一些實施態樣中，篩選用於調節免疫反應的候選 TIGIT 結合劑之方法包含測定該劑是否能夠降低免疫抑制因子細胞(諸如 Treg 或 MDSC)之活性。

VII. 包含本文所述之劑的套組

[0589] 本發明提供包含本文所述之 TIGIT 結合劑的套組，其可用於進行本文所述之方法。在特定的實施態樣中，套組包含至少一種經純化之 TIGIT 結合劑於一或多個容器中。在一些實施態樣中，套組含有所有必要及/或足以進行檢測檢定法的組份，包括所有的對照物、進行檢定的用法說明及用於分析和呈現結果之任何必要的軟體。熟習本技術領域者可輕易地辨識本發明所揭示之 TIGIT 結合劑可輕易地併入本技術中熟知的經確立之套組型式之一者中。

[0590] 另外提供包含 TIGIT 結合劑以及至少一種額外治療劑之套組。在特定的實施態樣中，第二(或更多)治療劑為化療劑。在特定的實施態樣中，第二(或更多)治療

劑為抗體。

[0591] 本發明的實施態樣可參考下列的非限制性實施例而進一步定義，其詳細說明本發明的特定抗體之製備及使用本發明的抗體之方法。那些熟習本技術領域者將明白可對材料及方法二者實施許多修改而不脫離本發明的範圍。

實施例

實施例 1

產生抗 TIGIT 抗體

[0592] 抗 TIGIT 抗體係使用小鼠 TIGIT 的細胞外結構域而產生，使兔子免疫。以流動式細胞測量術篩選用於抗體與小鼠 TIGIT 及人類 TIGIT 結合之上清液，且選擇用於進一步特徵化的 9 種抗體克隆(圖 1)。篩選來自該等抗體之上清液特異性阻斷小鼠 TIGIT 與其相反受體小鼠 PVR 之交互作用的彼之能力。四種抗體顯示出阻斷 TIGIT/PVR 交互作用。重要的是該等抗體中之二者能夠結合人類 TIGIT (313Rb1 和 313Rb2)。

[0593] 將 313Rb1 之重鏈和輕鏈可變區選殖至小鼠 IgG1 型式中以產生嵌合抗體 313R11 及至小鼠 IgG2a 型式中以產生嵌合抗體 313R12。313R11 和 313R12 之 CDR 序列為(i)重鏈 CDR1 GSSLSSSYMS (SEQ ID NO：7)，(ii)重鏈 CDR2 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO：8)，(iii)重鏈 CDR3 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO：9)，(iv)輕鏈 CDR1

QASQSISSYLNW (SEQ ID NO : 10) , (v) 輕鏈 CDR2 DALKLAS (SEQ ID NO : 11) , 及 (vi) 輕鏈 CDR3 QQEHSVGNVDN (SEQ ID NO : 12) 。 313R11 和 313R12 之重鏈可變區序列為 SEQ ID NO : 17 及 313R11 和 313R12 之輕鏈可變區序列為 SEQ ID NO : 18 。 313R11 之重鏈序列為 SEQ ID NO : 21 或 SEQ ID NO : 26(沒有信號序列) 。 313R12 之重鏈序列為 SEQ ID NO : 22 或 SEQ ID NO : 27(沒有信號序列) 。 313R11 和 313R12 之輕鏈序列為 SEQ ID NO : 23 或 SEQ ID NO : 28(沒有信號序列) 。

[0594] 將 313Rb2 之重鏈和輕鏈可變區選殖至人類 IgG1 型式中以產生抗體 313R14 。 CDR 經修飾以增加對人類 TIGIT 之親和性且使架構區最優化及/或人源化以產生數種變體 , 包括 313R19 。 313R14 和 313R19 之 CDR 序列為 (i) 重鏈 CDR1 GFSLSSSYMS (SEQ ID NO : 13) , (ii) 重鏈 CDR2 IIGSNGNTYYANWAKG (SEQ ID NO : 8) , (iii) 重鏈 CDR3 GGYRTSGMDP (SEQ ID NO : 9) , (iv) 輕鏈 CDR1 QASQSNIYSDLAW (SEQ ID NO : 14) , (v) 輕鏈 CDR2 RASTLAS (SEQ ID NO : 15) , 及 (vi) 輕鏈 CDR3 QQEHLVAWIYN (SEQ ID NO : 16) 。 313R14 之重鏈可變區序列為 SEQ ID NO : 19 及 313R14 之輕鏈可變區序列為 SEQ ID NO : 20 。 313R19 之重鏈可變區序列為 SEQ ID NO : 32 及 313R19 之輕鏈可變區序列為 SEQ ID NO : 20 。 313R14 之重鏈序列為 SEQ ID NO : 24 或 SEQ ID NO : 29 (沒有信號序列) 。 313R19 之重鏈序列為 SEQ ID

NO : 33 或 SEQ ID NO : 34(沒有信號序列)。313R14 和 313R19 之輕鏈序列為 SEQ ID NO : 25 或 SEQ ID NO : 30(沒有信號序列)。

[0595] 編碼包含 313R19 抗體之重鏈可變區的多肽之質體係在 2015 年 5 月 27 日依照布達佩斯條約之條款寄存於美國菌種保存中心(ATCC)，10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA 且以 PTA-122180 編號。編碼包含 313R19 抗體之輕鏈可變區的多肽之質體係在 2015 年 5 月 27 日依照布達佩斯條約之條款寄存於 ATCC，10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA 且以 PTA-122181 編號。

實施例 2

TIGIT 傳訊及 TIGIT 磷酸化

[0596] 如本文所述，TIGIT 係在與其相反受體 PVR 交互作用之後在其胞質尾區磷酸化。TIGIT 之磷酸化為級聯的開始，該級聯包括影響其他已知的傳訊途徑之下游事件。因此，評估 TIGIT 磷酸化以及下游蛋白質之磷酸化狀態可給出關於 TIGIT 功能及 TIGIT 拮抗劑效應之訊息。

[0597] Jurkat CD4+人類 T 細胞系缺乏人類或鼠類 TIGIT 表現，如以即時 PCR 及 FACS 所測定(未顯示數據)。為了產生 TIGIT 表現之細胞系，將 Jurkat 細胞以表現以 FLAG 及綠螢光蛋白(GFP)標籤化之鼠類 TIGIT (mTIGIT)的慢病毒建構體感染。E.G7-OVA 鼠類淋巴瘤細

胞系缺乏人類或鼠類 PVR 之表現，如以即時 PCR 及/或 FACS 所測定。E.G7-OVA 細胞組成性地合成且分泌卵白蛋白(OVA)且以 E.G7-OVA 細胞免疫之 C57BL/6 小鼠引起對 OVA 258-276 肽具有特異性的經 H-2 K^b 限制之細胞毒性淋巴細胞。為了產生 PVR 表現之細胞系，將 E.G7-OVA 細胞以表現鼠類 PVR (mPVR)及 GFP 的慢病毒建構體感染。將來自各感染之細胞系的 GFP-陽性細胞使用 FACS Aria II 儀器(BD Biosciences)分類至 96 槽孔盤中且將分離之單細胞擴展成克隆。在源自單細胞的克隆中的 GFP 陽性及 mTIGIT 或 mPVR 表現係以 FACS 分析及即時 PCR 確認(未顯示數據)。

[0598] 為了評估反應 PVR 之 TIGIT 磷酸化，將細胞系在 37°C 下於無血清培養基中培育 2 小時。將 Jurkat-mTIGIT 細胞與親代 E.G7-OVA 細胞或 E.G7-OVA-mPVR 細胞以 5 : 1 之細胞比混合且在 37°C 下於酪胺酸磷酸酶抑制劑(10mM 釩酸鈉，New England Biolabs)的存在下培育 5 分鐘。製備細胞溶解物且以捕獲經 FLAG-標籤化之 mTIGIT 蛋白質的經抗 FLAG-包覆之磁珠免疫沉澱。將免疫沉澱物以西方墨點分析評估。使用抗磷酸酪胺酸抗體(Cell Signaling Technology)評估存在的磷酸化 TIGIT。使用抗 FLAG 抗體(Cell Signaling Technology)評估存在的總 TIGIT。

[0599] 與未表現 PVR 之細胞相比，觀察出 TIGIT 在反應 mPVR 表現之腫瘤細胞的 T 細胞中高度磷酸化(圖

2A)。

[0600] 為了評估可能受 TIGIT 影響的其他傳訊途徑，將細胞系在 37°C 下於無血清培養基中培育 2 小時。將 Jurkat-mTIGIT 細胞與親代 E.G7-OVA 細胞或 E.G7-OVA-mPVR 細胞以 5 : 1 之細胞比混合且在 37°C 下培育 0、5、15、45 或 60 分鐘。製備細胞溶解物且以西方墨點分析評估。磷酸化 SHP1 (含 SH2 之酪胺酸磷酸酶 1) 及 Erk1/2 之含量分別使用抗磷酸 SHP1 (Tyr564) 抗體及抗磷酸 Erk1/2 (Thr202/Tyr204) 抗體 (二者皆來自 Cell Signaling Technology) 測定。總 Erk1/2 含量係使用抗 Erk1/2 抗體 (Cell Signaling Technology) 測定。SHP1 為經細胞激素媒介之信號轉導途徑 (包括 JAK/STAT 途徑) 之重要的負調節劑，而 Erk1/2 為參與 Ras-Raf-MEK-ERK 信號轉導級聯之蛋白激酶。

[0601] 如圖 2B 中所示，當 TIGIT 表現之 T 細胞與 mPVR 表現之腫瘤細胞培育時，則 SHP1 及 Erk1/2 經特異性活化。如以磷酸化指示之活化係在早至 5 分鐘時間點觀察到且以 45 分鐘出現開始降低的 Erk1/2 及以 60 分鐘出現開始降低的 SHP1。SHP1 及 Erk1/2 在未表現 mTIGIT 之親代 Jurkat T 細胞中對 mPVR 沒有活化反應 (未顯示數據)。

[0602] 為了研究 TIGIT 拮抗劑是否會抑制 TIGIT 活性，在抗 TIGIT 抗體的存在下進行 TIGIT 磷酸化檢定。如上文所述，將 Jurkat-mTIGIT 細胞與親代 E.G7-OVA 細胞

或 E.G7-OVA-mPVR 細胞以 5 : 1 之細胞比混合且在 37°C 下於 10mM 鈣酸鈉及 20 微克/毫升之對照抗體(多克隆鼠類 IgG ; Sigma)、抗 TIGIT 抗體 313R11、抗 TIGIT 抗體 313R12 或抗 TIGIT 抗體 313Rb1 的存在下培育 5 分鐘。製備細胞溶解物且以捕獲經 FLAG-標籤化之 mTIGIT 蛋白質的經抗 FLAG-包覆之磁珠免疫沉澱。將免疫沉澱物以西方墨點分析評估。使用抗磷酸酪胺酸抗體(Cell Signaling Technology)評估存在的磷酸化 TIGIT。使用抗 FLAG 抗體(Cell Signaling Technology)評估存在的總 TIGIT。

[0603] 如先前所示，當 mTIGIT 表現之 Jurkat T 細胞與 mPVR 表現之腫瘤細胞組合時，則 mTIGIT 高度磷酸化。當細胞在抗 TIGIT 抗體的存在下培育時，則反應與 mPVR 交互作用的 mTIGIT 磷酸化降低及/或廢除。TIGIT 磷酸化的降低係以抗 TIGIT 抗體 313R12 最顯著(圖 3)。

[0604] 進行研究 TIGIT 拮抗劑是否會抑制 TIGIT 傳訊的額外實驗。類似於上文所述之研究，將 Jurkat-mTIGIT 細胞與親代 E.G7-OVA 細胞或 E.G7-OVA-mPVR 細胞以 5 : 1 之細胞比混合且在 37°C 下於濃度增加的(0-40 微克/毫升)抗 TIGIT 抗體 313R11、抗 TIGIT 抗體 313R12 或抗 TIGIT 抗體 313Rb1 的存在下培育 15 分鐘。製備細胞溶解物且以西方墨點分析評估。磷酸化之 SHP1(含有 SH2 之酪胺酸磷酸酶 1)及磷酸化之 Erk1/2 分別使用抗磷酸 SHP1 (Tyr562)抗體及抗磷酸 Erk1/2 (Thr202/Tyr204)抗體測定。使用抗 SHP1 抗體評估總 SHP1 含量。使用抗

Erk1/2 抗體評估總 Erk1/2 含量。

[0605] 反應 mTIGIT-mPVR 交互作用之 Erk1/2 磷酸化明確地由抗 TIGIT 抗體以劑量依賴方式抑制(圖 4)。反應 mTIGIT-mPVR 交互作用之 SHP1 磷酸化係由抗 TIGIT 抗體 313Rb1 及 313#11 以劑量依賴方式抑制。在所顯示的研究中，抗體 313R12 似乎對 SHP1 磷酸化僅具有弱的反應。

[0606] 該等結果強力示意抗 TIGIT 抗體抑制 TIGIT 功能且影響下游傳訊途徑。

實施例 3

TIGIT 抑制細胞激素生產

[0607] T 細胞融合瘤 B3Z86/90.14 (B3Z)穩定地表現 OVA-特異性 H-2K^b T 細胞受體(TCR)。將 B3Z 細胞以表現鼠類 TIGIT (mTIGIT)之慢病毒建構體感染且產生源自單細胞之 mTIGIT 克隆(B3Z-mTIGIT)。E.G7-OVA 鼠類淋巴瘤細胞系穩定地表現 OVA 且可活化對 B3Z 細胞之 OVA-特異性 TCR，導致 IL-2 分泌。為了測定 mTIGIT/mPVR 交互作用對抗原特異性 IL-2 分泌的效應，將親代 B3Z 細胞或 B3Z-mTIGIT 細胞與親代 E.G7-OVA 或 E.G7-OVA-mPVR 細胞(上文所述，參見實施例 2)以 2:1 之比在 12 槽孔盤中培育。在 24 小時之後，以 ELISA (R&D Systems)測量在無細胞培養物上清液中的 IL-2 濃度。數據係以反應 mPVR 表現之腫瘤細胞的親代 B3Z 或 B3Z-mTIGIT T 細胞之 IL-2

分泌與比較反應 mPVR 陰性腫瘤細胞之 IL-2 分泌的比來表示。

[0608] 親代 B3Z T 細胞有類似的 IL-2 分泌，無關於 mPVR 對 OVA 呈現之腫瘤細胞的表現(亦即約 1.0 之比)。相反地，來自 B3Z-mTIGIT T 細胞的 IL-2 分泌在 mPVR 表現之腫瘤細胞的存在下比在 mPVR 陰性腫瘤細胞的存在下更低(亦即 < 1.0 之比)(圖 5A)。當 B3Z-mTIGIT T 細胞在與 E.G7-OVA 細胞共培育之前以 20 微克/毫升之抗 TIGIT 抗體 313R11 或 313R12 預處理時，則不再抑制 IL-2 生產(圖 5B)。

[0609] 該等結果示意以 mPVR 活化 mTIGIT 會抑制反應抗原的 T 細胞活化，如以降低的 IL-2 生產所證實。此外，以 TIGIT 拮抗劑阻斷 TIGIT 會抑制 TIGIT 活化且出現降低與 TIGIT 相關聯的 T 細胞活性抑制，如所觀察到大量生產的 IL-2。該等數據支持抑制 TIGIT 可“釋放對 T 細胞抑制的約束”及增強免疫反應的理論。

實施例 4

TIGIT 抑制 NK 細胞之細胞毒性

[0610] 將 NK-92 人類自然殺手(NK)細胞系以表現經 FLAG 及 GFP 標籤化之 mTIGIT 的慢病毒建構體感染且衍生出選殖之細胞系(NK-92-mTIGIT)，如上文所述。將 721.221 人類 B-細胞系以表現 mPVR 及 GFP 的慢病毒建構體感染且產生選殖之細胞系(721.221-mPVR)。以 FACS 及

即時 PCR 確認親代 721.221 細胞缺乏人類或鼠類 PVR 表現(未顯示數據)。親代 NK-92 細胞或 NK-92-mTIGIT 細胞溶解親代 721.221 或 721.221-mPVR 腫瘤細胞之能力係在標準的 4 小時鈣黃綠素釋放檢定法中測試。將 NK-92 或 NK-92-mTIGIT 細胞平鋪於 96 槽孔 V 形底盤中。將標靶 721.221 或 721.221-mPVR 細胞在 37°C 下以 10 μ M 鈣黃綠素 AM (Life Technologies)經 1 小時標記且接著與 NK-92 細胞以 25:1 或 12:1 的效應子:標靶之比組合。在 37°C 下培育 4 小時之後，收獲無細胞上清液且在螢光計上以 485 奈米激發及 535 奈米放射下定量鈣黃綠素釋放。在隨後的實驗中，將 NK-92 細胞及 NK-92-mTIGIT 在 20 微克/毫升之抗 TIGIT 抗體 313R11、抗體 313R12 或對照抗體的存在下培育 X 分鐘。接著將細胞用於鈣黃綠素釋放檢定法中，如上文所述。

[0611] 特異性細胞溶解百分比係如下測定：溶解% = $100 \times (ER-SR)/(MR-SR)$ ，其中 ER、SR 及 MR 分別代表實驗、自發性及最大鈣黃綠素釋放。自發性釋放為在培養基中單獨培育的標靶細胞發射之螢光(亦即在沒有效應子細胞的存在下)，而最大釋放係藉由以等體積的 10% SDS 溶解標靶細胞來測定。數據係以 NK-92 細胞(親代或 NK-92-mTIGIT)對抗 721.221-mPVR 標靶細胞之細胞毒性相對 NK-92 細胞(親代或 NK-92-mTIGIT)對抗親代(mPVR 陰性)721.221 標靶細胞之細胞毒性的比呈示。

[0612] 如圖 6A 中所示，親代 NK-92 細胞具有類似

的對抗 mPVR 陽性及 mPVR 陰性 721.221 標靶細胞之細胞毒性(亦即約 1.0 之比)。相反地，與對抗 mPVR 陰性親代 721.221 細胞系之細胞毒性相比，NK-92-mTIGIT 細胞對抗 721.221-mPVR 細胞之細胞毒性降低(亦即 < 1.0 之比)。當效應子:標靶之比為 25:1 或 12:1 時，結果沒有差別。當 NK-92 或 NK-92-mTIGIT 細胞在用於細胞毒性檢定法之前以抗 TIGIT 抗體 313R11 或抗體 313R12 處理時，則降低及/或廢除經細胞媒介之細胞毒性的抑制作用(圖 6B)。

[0613] 該等結果示意以 mPVR 活化 mTIGIT 會抑制經細胞媒介之細胞毒性。重要的是結果證明 TIGIT 拮抗劑可干擾 PVR-TIGIT 交互作用且造成 NK 細胞修復或“釋放對 NK 細胞之細胞毒性能力的約束”。

實施例 5

以抗 TIGIT 抗體抑制活體內腫瘤生長

[0614] 鼠類結腸腫瘤系 CT26.WT 係經皮下植入(30,000 個細胞/小鼠)6-8 週齡 Balb/c 小鼠的後脅腹中。容許腫瘤生長 10 天，直到其達到約 50 立方毫米體積為止。將小鼠以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R11 (mIgG1 抗體)、抗 TIGIT 抗體 313R12 (mIgG2a 抗體)、mIgG1 對照抗體或 mIgG2a 對照抗體治療(每組對照抗體的 $n = 10$ 及每組試驗抗體的 $n = 20$)。將小鼠以每週兩次經腹膜內注射給藥三週。監測腫瘤生長且在第 10、15、18、22、25 和 29 天以電子式卡尺測量腫瘤體積。

[0615] 如圖 7A 中所示，與同型匹配之對照抗體相比，抗 TIGIT 抗體 313R12 抑制幾乎 75%之腫瘤生長。9 隻小鼠中的腫瘤以第 29 天消退至不可檢測的程度。與同型匹配之對照抗體相比，抗 TIGIT 抗體 313R11 僅抑制約 15%之腫瘤生長。抗體 313R11 及 313R12 之差別僅為彼之 IgG 同型物，因為 313R12 為 IgG2a 抗體及 313R11 為 IgG1 抗體。該等結果示意抗體同型物對抗 TIGIT 抗體之治療效能可具有顯著的效應。與小鼠 IgG1 抗體(等同於人類 IgG2)相比，已知小鼠 IgG2 抗體(等同於人類 IgG1 抗體)具有增加的 ADCC 活性，且這生物特徵可在抗體 313R12 之強力抗腫瘤效應中扮演一角色。

[0616] 以抗 TIGIT 抗體 313R12 及對照 mIgG2a 抗體重複實驗。如上文所述，將 CT26.WT 細胞同時植入(30,000 個細胞/小鼠)6-8 週齡 Balb/c 小鼠的後脅腹中。容許腫瘤生長 7 天，直到其達到約 55 立方毫米體積為止。將小鼠以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12 或 mIgG2a 對照抗體治療(每組 $n = 10$)。將小鼠以每週兩次經腹膜內注射給藥三週。監測腫瘤生長且在第 7、14、17、21、25、28 和 31 天以電子式卡尺測量腫瘤體積。

[0617] 如先前研究中所觀察，抗 TIGIT 抗體 313R12 抑制 CT26.WT 腫瘤生長，在所有 10 隻小鼠中皆察看到腫瘤生長抑制(圖 7B)。此外，在以抗體 313R12 治療的 10 隻中有 9 隻小鼠的腫瘤自原來的腫瘤大小消退，在治療 2 週之後以 8 隻小鼠的腫瘤消退至不可檢測的程度。在這研

究中，在 IgG2 抗體對照組中有 3 隻小鼠的腫瘤消退，但是已知腫瘤消退可發生在未經治療之免疫活性小鼠中，尤其若具有少的腫瘤細胞初始數目。然而，以抗體 313R12 治療組中的完全生長抑制及/或腫瘤消退證明以抗 TIGIT 抗體治療具有顯著的治療效應且這可歸因於個體免疫反應的調節及/或增強。

[0618] 成功的抗癌免疫治療包括產生長期抗腫瘤免疫性。為了研究是否已確立長期免疫性，將來自本文所述之研究的小鼠(其具有在以抗 TIGIT 抗體治療後消退至不可檢測程度的 CT26.WT 腫瘤)以新鮮 CT26.WT 腫瘤細胞挑戰。將腫瘤完全消退的 11 隻小鼠在第 132 天(在抗 TIGIT 抗體 313R12 的最後劑量之後 102 天)以增加 CT26.WT 細胞數目(60,000 個細胞/小鼠)注射。將 10 隻原生小鼠以相同的 CT26.WT 細胞數目之 CT26.WT 細胞注射，作為對照組。不治療小鼠，監測腫瘤生長且以電子式卡尺測量腫瘤體積。

[0619] 在對照組中，全部 10 隻小鼠皆於第 23 天發展出腫瘤且予以安樂死。相反地，先前已排除 CT26.WT 腫瘤的小鼠中有 10 隻沒有長出腫瘤。剩餘的小鼠在注射後 14 天發展出小的腫瘤生長，但是腫瘤在第 21 天完全消退。該等小鼠接著再以 150,000 個 CT26.WT 細胞(5 倍的初始量的細胞數目)挑戰第二次。將 10 隻原生小鼠以相同的 CT26.WT 細胞數目(150,000 個細胞/小鼠)之 CT26.WT 細胞注射，再作為對照組。如之前的實驗，在對照組中的

全部 10 隻小鼠皆發展出腫瘤且在第 22 天予以安樂死。小鼠中有 6 隻沒有長出腫瘤及另外 2 隻小鼠發展出小的腫瘤生長，其在第 22 天完全消退。其他 3 隻小鼠有小的腫瘤，其似乎正在消退或穩定。該等結果總結於表 3 中且以各組中的無腫瘤小鼠之百分比呈示。

表3

	最初挑戰 30,000 個細胞	第1次再挑戰 60,000 個細胞	第2次再挑戰 150,000 個細胞
對照組小鼠	10% (1/10)	0% (0/10)	0% (0/10)
以 313R12抗體 治療之小鼠 ¹	55% (11/20)	100% (11/11)	72% (8/11)

¹ 小鼠僅在最初腫瘤挑戰之後以313R12抗體治療

[0620] 該等結果指出以抗 TIGIT 抗體治療可產生強力且有效的抗腫瘤反應。重要的是抗腫瘤反應似乎導致長期免疫性及免於腫瘤細胞。

實施例 6

抗 TIGIT IgG2 抗體之效應子活性

[0621] 已顯示出 IgG-Fc 區之糖化作用為透過補體(亦即 ADCC 和 CDC)之 FcγRI、FcγII、FcγRIII 和 C1q 組份媒介之生物活性最優化表現所必要的。例如，小鼠 IgG2a 抗體重鏈的糖化部位係在 SEQ ID NO：22 之天冬醯胺酸 314 上。以丙胺酸殘基取代天冬醯胺酸導致抗體去糖化且降低 ADCC 活性。產生抗 TIGIT 抗體 313R12 抗體之去糖化變體，其包含在位置 314 上的丙胺酸殘基且稱為 313R13。

[0622] 比較抗 TIGIT 抗體 313R13 與抗 TIGIT 抗體 313R12 之活性以研究去糖化對抗腫瘤活性的效應。將 CT26.WT 細胞植入(30,000 個細胞/小鼠)6-8 週齡 Balb/c 小鼠的後脅腹中。容許腫瘤生長 10 天，直到其達到約 50 立方毫米體積為止。將小鼠以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12、抗 TIGIT 抗體 313R13 或 mIgG2a 對照抗體治療(每組對照抗體的 $n = 10$ 及每組試驗抗體的 $n = 20$)。將小鼠以每週兩次經腹膜內注射給藥三週。監測腫瘤生長且在第 7、10、14、17 和 21 天以電子式卡尺測量腫瘤體積。

[0623] 如圖 8 中所示，與同型匹配之對照組相比，抗 TIGIT 抗體 313R12 顯示顯著的腫瘤生長抑制。相反地，去糖化之抗 TIGIT 抗體 313R13 未顯示顯著的抗腫瘤活性。

[0624] 因為威信去糖化抗體可具有受限或沒有 ADCC 活性，所以該等結果示意 ADCC 可在抗 TIGIT 抗體 313R12 之強力抗腫瘤效應中扮演顯著的角色。

實施例 7

IFN- γ 、IL-2、IL-4 和 IL-10 之 ELISpot 檢定法

[0625] ELISpot 為檢測細胞激素分泌細胞的高敏性免疫檢定法。簡言之，ELISpot 檢定法係使用預包覆在微盤槽孔上之對所欲細胞激素具有特異性的捕獲抗體。將經刺激之細胞分散在槽孔中且使緊鄰任何細胞激素分泌細胞附

近的固定抗體結合經分泌之細胞激素。接著進行標準的清洗步驟及以適當的檢測試劑培育。例如，最常使用生物素化檢測抗體，接著使用與鹼性磷酸酶共軛之鏈親和素及有色的受質溶液之組合。有色的沉澱物係在細胞激素所在部位上形成且以點顯現，每一個別的點代表個別的細胞激素分泌細胞。可以自動化讀取系統或使用顯微鏡的手動方式計數點。在一些實施態樣中，使用自動化讀取系統捕獲每一槽孔的影像，且使用總點數、點面積或總光學密度(TOD)定量。

[0626] IFN- γ 分泌細胞係使用小鼠 IFN- γ ELISpot 套組(MabTech)檢測。細胞係自以抗 TIGIT 抗體 313R12 (n = 6)或同型匹配之對照抗體(n = 6)治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之脾分離而來(參見實施例 5)。將來自各治療組的各小鼠之脾細胞(5×10^5 個/槽孔)分配至以對小鼠 IFN- γ 具有特異性之抗體包覆之 96 槽孔盤中。將細胞在腫瘤特異性 CD8⁺ T 細胞肽 AH-1 的存在或不存在下培養且培育 48 小時。AH-1 肽(PSYVYHQF; SEQ ID NO: 31)為內源於 CT26.WT 細胞系的鼠類白血病毒親嗜性原病毒之 gp70 套膜蛋白質的經 H2-L^d-限制之抗原決定區。細胞分泌之 IFN- γ 係依照製造商指示檢測。使用 Bioreader 6000-F-z 儀器(BioSys)捕獲影像，且測定點數、點面積或總光學密度。結果係以總光學密度顯示且數據係以平均 $\pm$ S.E.M 表示。

[0627] 如圖 9A 中所示，與以對照抗體治療之小鼠相比，以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之小鼠中的 IFN- γ 分泌

細胞顯著地增加。重要的是 IFN- γ 分泌細胞僅在 AH-1 肽的存在下增加。該等結果指出抗 TIGIT 抗體 313R12 活化腫瘤特異性 CD8⁺ T 細胞。活化可為直接或間接，亦即抑制因子細胞之抑制作用。

[0628] IL-2 分泌細胞係使用小鼠 IL-2 ELISpot 套組 (MabTech) 檢測。細胞係自以抗 TIGIT 抗體 313R12 (n = 6) 或同型匹配之對照抗體 (n = 6) 治療之攜腫瘤的小鼠之脾分離而來。將來自各治療組的各小鼠之脾細胞 (5×10^5 個/槽孔) 分配至以對小鼠 IL-2 具有特異性的抗體包覆之 96 槽孔盤中。將細胞培育 48 小時。細胞分泌之 IL-2 係依照製造商指示檢測。使用 Bioreader 6000-F-z 儀器 (BioSys) 捕獲影像，且測定點數、點面積或總光學密度。結果係以總光學密度顯示且數據係以平均 $\pm$ S.E.M 表示。

[0629] 如圖 9B 中所示，與以對照抗體治療之小鼠相比，在以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之小鼠中的 IL-2 分泌細胞略微降低。在 AH-1 肽存在或不存在下降低的 IL-2 分泌細胞量相等。

[0630] IL-4 分泌細胞係使用小鼠 IL-4 ELISPOT 套組 (MabTech) 檢測。細胞係自以抗 TIGIT 抗體 313R12 (n = 6) 或同型匹配之對照抗體 (n = 6) 治療之攜腫瘤的小鼠之脾分離而來。將來自各治療組的各小鼠之脾細胞 (5×10^5 個/槽孔) 分配至以對小鼠 IL-4 具有特異性的抗體包覆之 96 槽孔盤中。將細胞培育 48 小時。細胞分泌之 IL-4 係依照製造商指示檢測。使用 Bioreader 6000-F-z 儀器 (BioSys) 捕獲

影像，且測定點數、點面積或總光學密度。結果係以總光學密度顯示且數據係以平均 $\pm$ S.E.M 表示。

[0631] 如圖 9C 中所示，與以對照抗體治療之小鼠相比，在以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之小鼠中的 IL-4 分泌細胞顯著地降低。

[0632] IL-10 分泌細胞係使用小鼠 IL-10 ELISPOT 套組(MabTech)檢測。細胞係自以抗 TIGIT 抗體 313R12 ($n = 6$)或同型匹配之對照抗體($n = 6$)治療之攜腫瘤的小鼠之脾分離而來。將來自各治療組的各小鼠之脾細胞(5×10^5 個/槽孔)分配至以對小鼠 IL-10 具有特異性的抗體包覆之 96 槽孔盤中。將細胞培育 48 小時。細胞分泌之 IL-10 係依照製造商指示檢測。使用 Bioreader 6000-F-z 儀器(BioSys)捕獲影像，且測定點數、點面積或總光學密度。結果係以總光學密度顯示且數據係以平均 $\pm$ S.E.M 表示。

[0633] 如圖 9D 中所示，與以對照抗體治療之小鼠相比，在以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之小鼠中的 IL-10 分泌細胞顯著地降低。

[0634] IFN- γ 通常係由 NK 細胞、Th1 CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、抗原呈現細胞和 B-細胞產生。研究示意 IFN- γ 在腫瘤免疫性中的角色且其可為以其他的細胞激素(特別為 IL-12 和 IL-2)媒介之抗腫瘤活性的調節劑。因此，以導致 IFN- γ 增加的抗 TIGIT 抗體治療應該增強抗腫瘤免疫性。

[0635] IL-4 係由 CD4+ Th2 細胞生產且誘發原生

CD4⁺ T 細胞分化成 Th2 細胞。另外，IL-4 抑制 Th1 細胞產生、抑制 Th1 細胞激素(諸如 TNF- α 和 IL-12)生產及抑制巨噬細胞活化。IL-10 通常係由 Treg 和輔助 T 細胞生產。IL-10 原來經辨識為 Th2 細胞激素，其調節先天免疫細胞生長及/或分化且抑制 T 細胞(特別為細胞毒性 T 細胞)之活化及效應子功能。最近，IL-10 已顯示出具有有一些免疫刺激效應及因此被視為具有多向性功能。在本發明的研究中，顯著降低來自以抗 TIGIT 抗體治療之小鼠的 IL-4 和 IL-10-生產細胞示意靶定 TIGIT 可導致 Th2 反應抑制且可抑制 Treg 及/或 Treg 功能。

實施例 8

細胞之細胞毒性檢定法

[0636] 用於 T 細胞之細胞毒性檢定法的細胞係自上述攜 CT26.WT 腫瘤之小鼠的脾收獲(實施例 5)。將細胞平鋪於 96 槽孔 V 形底盤中的以 10% (v/v)胎牛血清(FBS)、2mM L-麩醯胺酸、100U/毫升之青黴素及 100 微克/毫升之鏈黴素(Gibco)補充之 RPMI 1640 培養基(Gibco/Life Technologies, Grand Island, NY)中。將 CT26.WT 標靶細胞在 37°C 下以 10 μ M 鈣黃綠素 AM (Life Technologies)經 1 小時標記且接著與脾細胞以 50:1 的效應子:標靶(E:T)之比組合。在 37°C 下培育 4 小時之後，收獲無細胞上清液且在螢光計上以 485 奈米激發及 535 奈米放射下定量鈣黃綠素釋放。特異性細胞溶解百分比係如下測定：溶解% =

$100 \times (\text{ER-SR})/(\text{MR-SR})$ ，其中 ER、SR 及 MR 分別代表實驗、自發性及最大鈣黃綠素釋放。自發性釋放為在培養基中單獨培育的標靶細胞發射之螢光(亦即在沒有效應子細胞的存在下)，而最大釋放係藉由以等體積的 10% SDS 溶解標靶細胞來測定。

[0637] 如圖 10 中所示，與來自以對照抗體治療之小鼠的細胞相比，當小鼠以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療時，證明來自攜 CT26.WT 腫瘤之小鼠的 CD8+細胞毒性 T 細胞增加殺死 CT26.WT 標靶細胞的能力。

[0638] 該等結果示意抗 TIGIT 抗體可增加抗原特異性細胞毒性 T 細胞活性及因此增強抗腫瘤免疫反應。這增加之細胞毒性 T 細胞活性可能由於抗 TIGIT 抗體之直接或間接效應，亦即抑制了抑制因子細胞效應。

實施例 9

T 調節性細胞(Treg)檢定法

[0639] T 調節性細胞(Treg)在維持衡定及防止自體免疫反應中扮演必要的角色。Treg 為 T 細胞的小子集，其大部分為 CD4+細胞且表現 CD25 (IL-2 受體 α 鏈)及其他的 Treg 細胞相關之分子標記。Foxp3 (轉錄因子)經辨識為 Treg 細胞發展及功能因子。Foxp3 被認為是界定且鑑別 Treg 細胞及分離 Treg 與其他的 T 細胞亞群之特異性標記。然而，已在人類細胞中挑戰 Foxp3 對 Treg 之特異性。除了 CD4+ Treg 細胞以外，CD8+ Treg 細胞代表另一

細胞亞群，且與 CD4⁺ Treg 細胞相比時，Foxp3 對彼等的發展及功能可能不如此重要。

[0640] Treg 在以抗 TIGIT 抗體治療之小鼠中的功能性係藉由測定 Treg 對原生 CD4⁺或 CD8⁺ T 細胞增生之效應來評估。原生 T 細胞係來自未經治療之小鼠的脾使用小鼠 CD3⁺ T 細胞富集管柱(R&D Systems)純化而來。將該等純化之 T 細胞以 5 μ M 紫色追蹤染料(VTD; Life Technologies)標記。將 2×10^5 個經 VTD 標記之 T 細胞與以抗 CD3 及抗 CD28 抗體包覆之珠培育，以刺激細胞增生。使用小鼠 Treg 分離套組(Miltenyi Biotec)自以抗 TIGIT 抗體 313R12(n = 6)或同型匹配之對照抗體(n = 5)治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠(參見實施例 5)之脾分離出 Treg。為了測定 Treg 對 T 細胞增生之衝擊，將經刺激之經 VTD 標記之 T 細胞(效應子)與來自以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之小鼠及以對照抗體治療之小鼠的經分離之脾 Treg 共同培養(1:0.5 之效應子:Treg 之比)。在第 4 天，清洗細胞且將細胞與抗小鼠 CD4 或抗小鼠 CD8 抗體培育。細胞係使用 FACSCanto II 儀器及 FACSDiva 軟體 v6.1.3 (BD Biosciences)的 FACS 分析來評估。VTD 信號係由於標記之細胞分裂而減半，因此將分析閘設定在以檢定中沒有 Treg 細胞所獲得的最大信號與以沒有抗 CD3/CD28 刺激所獲得的最小信號之間。使用在此區內對 CD4⁺ T 細胞及 CD8⁺ T 細胞之細胞百分比(降低之 VTD 表現)來計算 CD4⁺及 CD8⁺ T 細胞增生。抑制百分比係如下

計算[最大信號 - (樣品信號/最大信號)] X 100。

[0641] 如圖 11 中所示，以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療對源自脾之 Treg 對 CD4+ T 細胞增生之抑制功能沒有任何可觀察的效應。相反地，以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療降低約 30%之源自脾之 Treg 對 CD8+ T 細胞增生的抑制功能。

[0642] 該等結果示意以抗 TIGIT 抗體治療可造成降低的 Treg 功能及/或抑制，亦即“取消約束”免疫反應。降低 Treg 功能或 Treg 抑制可增強總體抗腫瘤免疫反應。

實施例 10

使抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之免疫細胞特徵化

[0643] 為了使抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠中之免疫細胞更佳地特徵化，以 FACS 分析自個別小鼠分離的脾細胞。將 CT26.WT 細胞 (20,000 個細胞/小鼠)注射至 6-8 週齡 Balb/c 小鼠的後脅腹中。容許腫瘤生長 10 天，直到其達到約 50 立方毫米體積為止。將小鼠以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12 或同型匹配之對照抗體治療(每組 n = 10-20)。將小鼠以每週兩次經腹膜內注射給藥。監測腫瘤生長且以電子式卡尺測量腫瘤體積。使用各治療組的 6 隻小鼠進行分析。在細胞注射後第 32 天(在最後抗體劑量後 1 天)分離脾細胞。將脾細胞(1×10^6)與重組 Fc 蛋白質培育 10 分鐘，以阻斷非

特異性結合，且接著與螢光染料共軛之抗體在 100 微升 FACS 染色緩衝液(HBSS 加上 2%之熱失活之小牛血清)中於冰上培育 20 分鐘。以清洗移除未結合之抗體且將死細胞以可固定的存活性染料標記。將細胞在室溫下固定在 2% 聚甲醛中 20 分鐘且使用 FACSCanto II 儀器及 FACSDiva 軟體 v6.1.3 (BD Biosciences)分析。

[0644] 總 T 細胞係使用抗小鼠 CD3e 抗體鑑別，CD4⁺ T 細胞係使用抗小鼠 CD4 抗體鑑別，及 CD8⁺ T 細胞係使用抗小鼠 CD8 抗體鑑別。中心記憶細胞係使用抗小鼠/人類 CD44 抗體鑑別及效應子記憶細胞係使用抗人類 CD62L 抗體鑑別。FACS 染色係如上述使用抗小鼠 CD8b 抗體(克隆 53-5.8，BioLegend)、抗小鼠 CD4 抗體(克隆 GK1.5，BioLegend)、抗小鼠 CD62L 抗體(克隆 MEL-14，BioLegend)和抗小鼠 CD44 抗體(克隆 1M7，BioLegend)進行。細胞係以代表中心記憶細胞的 CD44^高CD62L^高表現及代表效應子記憶細胞(閹控 CD8⁺ T 細胞)之 CD44^高CD62L^低表現來分析。

[0645] 與來自以對照抗體治療之小鼠的 T 細胞群相比，FACS 分析指出以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠具有增加的總活脾細胞之 T 細胞群(圖 12A)。與以對照抗體治療之小鼠相比，在以抗體 313R12 治療之小鼠中的(總活細胞之) CD4⁺ T 細胞百分比以及(總活細胞之) CD8⁺ T 細胞百分比增加(圖 12B 和圖 12C)。另外，在 CD4⁺ T 細胞群內的中心記憶細胞百分比

增加(圖 12D)。然而，在 CD8+ T 細胞群內的中心記憶細胞百分比未增加(圖 12E)。

[0646] 該等數據指出以抗 TIGIT 抗體治療增加 CD4+ 和 CD8+ T 細胞群二者的百分比。結果與增強的免疫反應一致。

[0647] 為了評定抗 TIGIT 抗體對標靶表現的效應，以流動式細胞測量術分析對 Treg 之 TIGIT 表現。如本文所述，Treg 為抑制因子細胞及已知 CD4+ Treg 表現轉錄因子 Foxp3。如上文所述，自以抗 TIGIT 抗體 313R12 或對照抗體治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠分離出脾細胞。將脾細胞(1×10^6)與重組 Fc 蛋白質培育 10 分鐘，以阻斷非特異性結合，且接著與抗 TIGIT 抗體 313R12 及抗小鼠 CD4 抗體在 100 微升 FACS 染色緩衝液(HBSS 加上 2%之熱失活之小牛血清)中於冰上培育 20 分鐘。在以 FACS 染色緩衝液清洗之後，將細胞以可固定的細胞存活性染料標記、固定且滲透隔夜。在滲透之後，將細胞以 1X 滲透緩衝液清洗兩次。將細胞在冰上使用抗小鼠 Foxp3 抗體經 30 分鐘染色，清洗且在室溫下以 2%甲醛固定 20 分鐘。使用 FACSCanto II 儀器進行流動式細胞測量術且數據分析係使用 FACSDiva 軟體 v6.1.3 (BD Biosciences)進行。

[0648] 如圖 13A 中所示，與來自以對照抗體治療之攜腫瘤的小鼠之脾細胞相比，在以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠中之表現 TIGIT 之總脾細胞百分比降低。兩組小鼠的總 CD4+細胞之 Foxp3+CD4+

細胞百分比(代表 Treg)為約 22-23%且似乎不受以抗 TIGIT 抗體治療的影響(圖 13B)。然而，與以對照抗體治療之攜腫瘤的小鼠相比，在來自以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之脾細胞群中的(總 Treg 之)TIGIT-陽性 Treg 百分比戲劇性地降低(圖 13C)。相反地，與以對照抗體治療之攜腫瘤的小鼠相比，在來自以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之脾細胞群中的 TIGIT-陰性 Treg 百分比略微增加(圖 13D)。

[0649] 該等結果示意抗 TIGIT 抗體 313R12 耗盡 TIGIT-陽性細胞，特別為 Treg。然而，如以 FACS 評定之降低的 TIGIT-陽性細胞可能由於 TIGIT 蛋白質之內化作用及/或 TIGIT 細胞表面表現之向下調節，而不是真正耗盡細胞。

[0650] 骨髓衍生性抑制細胞(MDSC)為骨髓細胞之異質化家族且已顯示為有效力的後天及先天二者免疫性抑制因子。MDSC 抑制 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞增生及活化且加速產生 Treg。咸信 MDSC 係藉由抑制抗腫瘤免疫反應、促進血管生成及創造轉移前環境而加速癌發展。MDSC 係以骨髓細胞系分化抗原 Gr1 和 CD11b 之細胞表面表現特徵化。Gr1 主要受限於顆粒細胞系之細胞上的表現及 CD11b 為在巨噬細胞、顆粒細胞、NK 細胞和 T 細胞表面上發現的細胞表面整合素。在小鼠中，MDSC 可部分建基於該等標記而分裂成兩個亞群：顆粒細胞 MDSC (G-MDSC)及單細胞 MDSC (M-MDSC)。G-MDSC 通常具有多

葉形細胞核及 CD11b+Gr1^高表現型，而 M-MDSC 具有單細胞形態及 CD11b+Gr1^低表現型。MDSC 的兩種群已顯示出以多重機制抑制 T 細胞反應，包括增加精胺酸酶、可誘發的氧化氮合成酶(iNOS)、氧化氮和反應性氧種類之生產。因此，MDSC 促成免疫抑制腫瘤微環境且可限制抗腫瘤免疫反應效應。

[0651] 來自以抗 TIGIT 抗體 313R12 或對照抗體治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之骨髓細胞(特別為 MDSC)係以 FACS 分析。將脾細胞(1×10^6)與重組 Fc 蛋白質培育 10 分鐘，以阻斷非特異性結合，且接著與螢光染料共軛之抗體在 100 微升 FACS 染色緩衝液(HBSS 加上 2%之熱失活之小牛血清)中於冰上培育 20 分鐘。接著將細胞與抗小鼠 CD11b 抗體及抗小鼠 Gr1 抗體培育。以清洗移除未結合之抗體且將細胞以可固定的存活性染料標記。將細胞在室溫下固定在 2%聚甲醛中 20 分鐘且使用 FACSCanto II 儀器及 FACSDiva 軟體 v6.1.3 (BD Biosciences)分析。

[0652] 如圖 14A 中所示，與來自以對照抗體治療之攜腫瘤的小鼠之 CD11b+骨髓細胞相比，來自以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之脾的(總活細胞)CD11b+骨髓細胞百分比降低約 25%。與來自以對照抗體治療之攜腫瘤的小鼠之 CD11b+Gr1+MDSC 相比，來自以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜腫瘤的小鼠之脾的(總 CD11b+骨髓細胞)CD11b+Gr1+MDSC 百分比降低約 45%(圖 14B)。在 MDSC 群內，來自以抗 TIGIT 抗體

313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之脾的 G-MDSC(經鑑別為 CD11b+Gr1^高)百分比降低約 66%，但是來自以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療之攜 CT26.WT 腫瘤的小鼠之脾的 M-MDSC(經鑑別為 CD11b+Gr1^低)增加約 30%(分別為圖 14C 和 14D)。

[0653] 該等結果示意以抗 TIGIT 抗體治療可藉由降低特異性免疫細胞(亦即 MDSC)之抑制活性而增強抗腫瘤反應。

實施例 11

以抗 TIGIT 抗體之活體內腫瘤生長抑制

[0654] 腎癌細胞為自 ATCC 獲得的源自 Balb/c 之腎腺癌細胞系。將腎癌細胞(5×10^5 個細胞/小鼠)經皮下植入 6-8 週齡 Balb/c 小鼠的後脅腹中。容許腫瘤生長 7 天，直到其達到約 43 立方毫米體積為止。將小鼠以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12 (mIgG2a 抗體)或 mIgG2a 對照抗體治療(每組 $n = 10$)。將小鼠以每週兩次經腹膜內注射給藥三週。監測腫瘤生長且在第 7、10、14、17、21 和 24 天以電子式卡尺測量腫瘤體積。

[0655] 如圖 15 中所示，與同型匹配之對照抗體相比，抗 TIGIT 抗體 313R12 強力抑制腫瘤生長。所有對照小鼠由於腫瘤尺寸而於第 28 天予以安樂死。相反地，以抗體 313R12 治療之 10 隻小鼠中之 8 隻的腫瘤在第 28 天消退及該等小鼠中之 5 隻沒有可檢測的腫瘤。原來 10 隻

小鼠中之 5 隻維持不變且直到注射後至少 100 天沒有可檢測的腫瘤。該等結果顯示抗 TIGIT 抗體 313R12 之抗腫瘤活性在數種不同的腫瘤類型中皆有效。

實施例 12

以抗 TIGIT 抗體之活體內腫瘤生長抑制-劑量研究

[0656] 因為抗 TIGIT 抗體已顯示出有效抑制腫瘤生長，所以進行劑量範圍研究。將鼠類結腸腫瘤系 CT26.WT 經皮下植入(30,000 個細胞/小鼠)Balb/c 小鼠中且容許腫瘤生長至約 35 立方毫米平均尺寸。將小鼠以 30、15、10、5、3、1 或 0.5 毫克/公斤之抗 TIGIT 抗體 313R12 或以對照抗體治療(每組 $n = 10$)。將小鼠以每週一次經腹膜內注射給藥，共三次劑量。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。

[0657] 圖 16 顯示各治療組的平均腫瘤體積。以各劑量(包括 0.5 毫克/公斤之最低量)的抗 TIGIT 抗體 313R12 治療皆強力抑制 CT26.WT 腫瘤生長。如表 4 中所示，以每個劑量值使至少 40%之小鼠的腫瘤在第 20 天消退。在每個治療組中，有個別的小鼠之腫瘤消退至不可檢測的程度。未於此實驗看到劑量反應曲線，其可能由於在開始治療時的腫瘤尺寸。

表4

以毫克/公斤計之劑量	具有消退之腫瘤 的小鼠數目	具有不可檢測之 腫瘤的小鼠數目
對照Ab	1/10	0/10
0.5	8/10	3/10
1	6/10	1/10
3	8/10	4/10
5	7/10	3/10
10	5/10	3/10
15	4/10	2/10
30	7/10	4/10

[0658] 該等結果證明抗 TIGIT 抗體 313R12 作為免疫治療劑之效力。關於看到顯著的抗腫瘤效應所需之少量抗 TIGIT 抗體的該等結果通常令人驚訝。

實施例 13

以抗 TIGIT 抗體及抗 PD-L1 抗體之活體內腫瘤生長抑制

[0659] 將鼠類結腸腫瘤系 CT26.WT 經皮下植入 (30,000 個細胞/小鼠) Balb/c 小鼠中，且在治療的第 1 天 (植入後第 10 天)，腫瘤具有約 105 立方毫米平均尺寸。將小鼠以 0.25 毫克/小鼠之抗 TIGIT 抗體 313R12、抗 PD-L1 抗體、313R12 與抗 PD-L1 抗體之組合或對照抗體治療 (每組 n = 10-20)。將小鼠以每週兩次投予抗體經 3 週。監測腫瘤生長且以電子式卡尺測量腫瘤體積。

[0660] 如圖 17B 中所示，抗 TIGIT 抗體 313R12 係以高百分比強力抑制小鼠中的 CT26.WT 腫瘤生長。應注意的是以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療不僅能夠抑制大部分小

鼠中的腫瘤生長，並且能夠誘發個別的腫瘤消退，時常至不可檢測的程度。以抗 PD-L1 抗體作為單一劑治療很少成功抑制腫瘤生長(圖 17C)。以抗 TIGIT 抗體 313R12 與抗 PD-L1 抗體之組合治療抑制腫瘤生長的程度比任一單獨的劑更大(圖 17D)。平均腫瘤體積顯示於圖 17E 中及來自各組的小鼠之存活百分比顯示於圖 17F 中。

[0661] 一種評估抗腫瘤記憶細胞群的存在及/或功能性之方法為以新鮮腫瘤細胞再挑戰先前治療之小鼠。以先前經抗 TIGIT 抗體 313R12、抗 mPD-L1 抗體或 313R12 與抗 mPD-L1 抗體之組合治療之小鼠(來自上述研究)用於再挑戰研究。將腫瘤在第一次腫瘤注射後至少 128 天完全消退且不可檢測出腫瘤的小鼠再以 CT26.WT 腫瘤細胞(30,000 細胞)挑戰。施予腫瘤再挑戰之小鼠係在再挑戰前 100 天接受最後的治療劑量。將原生 Balb/c 小鼠($n = 10$)以 CT26.WT 腫瘤細胞(30,000 細胞)注射，作為對照組。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。數據係以平均 $\pm$ S.E.M 表示。

[0662] 在原生小鼠中的 CT26.WT 腫瘤之平均腫瘤體積穩定地生長至第 28 天，具有約 1750 立方毫米平均腫瘤體積。來自先前實驗的小鼠中僅有 2 隻先前已以抗 PD-L1 抗體治療之小鼠具有完全消退的腫瘤，但是該 2 隻小鼠證明對腫瘤再挑戰的完全免疫性。有 4 隻先前已以抗 TIGIT 抗體治療之小鼠具有完全消退的腫瘤，且該等小鼠在再挑戰之後沒有長出腫瘤及證明對腫瘤再挑戰的完全免疫性。

另外，有 7 隻先前已以 313R12 與抗 PD-L1 抗體之組合治療之小鼠具有完全消退的腫瘤，且該等小鼠證明對腫瘤挑戰的完全免疫性。

[0663] 以作為單一劑或與抗 PD-L1 抗體組合之抗 TIGIT 抗體治療之小鼠似乎受到免於 CT26.WT 腫瘤細胞之再挑戰的強力保護。該等結果示意在以作為單一劑或與檢查點抑制劑組合之抗 TIGIT 抗體治療之後存在的免疫原性記憶。

實施例 14

以抗 TIGIT 抗體及抗 PD-1 抗體之活體內腫瘤生長抑制

[0664] 將鼠類結腸腫瘤系 CT26.WT 經皮下植入 (30,000 個細胞/小鼠) Balb/c 小鼠中，且在治療的第 1 天 (植入後第 7 天)，腫瘤具有約 62 立方毫米平均尺寸。將小鼠 ($n = 15$) 以 12.5 毫克抗 TIGIT 抗體 313R12、抗 PD-1 抗體、313R12 與抗 PD-1 抗體之組合或對照抗體治療 (每組 $n = 15$)。將小鼠以每週兩次經腹膜內注射投予抗體經 3 週。監測腫瘤生長且以電子式卡尺測量腫瘤體積。

[0665] 如圖 18B 中所示，以抗 TIGIT 抗體 313R12 治療強力抑制腫瘤生長。如前面的實施例中所見，以 313R12 治療不僅能夠抑制腫瘤生長，並且能夠誘發一些腫瘤消退。以抗 TIGIT 抗體 313R12 與抗 PD-1 抗體之組合治療抑制腫瘤生長的程度比任一單獨的劑更大 (圖 18D)。在第 24 天的四組中之平均腫瘤體積顯示於圖 18E

中。

[0666] 以先前經抗 TIGIT 抗體 313R12、抗 mPD-L1 抗體或 313R12 與抗 mPD-L1 抗體之組合治療之小鼠(來自上述研究)用於再挑戰研究。將腫瘤在第一次腫瘤注射後至少 100 天完全消退且不可檢測出腫瘤的小鼠再以 CT26.WT 腫瘤細胞(60,000 細胞)挑戰。將原生 Balb/c 小鼠(n = 10)以 CT26.WT 腫瘤細胞(60,000 細胞)注射，作為對照組。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。數據係以平均 $\pm$ S.E.M 表示。

[0667] 在原生小鼠中的 CT26.WT 腫瘤之平均腫瘤體積穩定地生長，在第 21 天具有約 1250 立方毫米平均腫瘤體積。來自先前實驗的小鼠中有 13 隻先前已以 313R12 與抗 PD-1 抗體之組合治療之小鼠具有完全消退的腫瘤，且該等小鼠證明對腫瘤挑戰的完全免疫性。

[0668] 該等結果進一步支持抗 TIGIT 抗體 313R12 為非常有效力的免疫治療劑之構想，即使以單一劑投予時。另外，抗 TIGIT 抗體之效能可藉由其與其他的免疫治療劑之組合而進一步增強。

實施例 15

產生抗 TIGIT 單克隆抗體

[0669] 抗體係對抗重組人類 TIGIT 胺基酸 22-141 (R&D Systems)及/或重組人類 TIGIT 胺基酸 22-138 (Sino Biological Inc.)而產生。小鼠(n=3)係使用標準的技術以

TIGIT 免疫。在最初免疫之後約 70 天使用 FACS 分析來篩選對抗人類 TIGIT 之個別小鼠的血清。在分離出動物脾細胞用於融合瘤生產之後，選擇具有最高的抗體效價之動物用於最終的抗原激勵。使用 SP2/0 作為小鼠脾細胞之融合夥伴。融合瘤細胞以每一槽孔 1 個細胞平鋪於 96 槽孔盤中且以 FACS 分析篩選對抗人類 TIGIT 之上清液。

[0670] 建構用於抗 TIGIT 抗體之 FACS 篩選的嵌合融合蛋白(FLAG-hTIGIT-CD4TM-GFP)，該嵌合融合蛋白賦予人類 TIGIT 的細胞外結構域之細胞表面表現且將嵌合融合蛋白轉染至 HEK-293T 細胞中。在 48 小時之後，將轉染之細胞懸浮在含有 2% FBS 及肝素之冰冷的 PBS 中且在 50 微升融合瘤上清液的存在下於冰上培育 30 分鐘。以 100 微升 PE 共軛之抗人類 Fc 二級抗體進行第二次培育，以檢測以抗體結合之細胞。將細胞與作為正對照物的抗 FLAG 抗體(Sigma-Aldrich)及作為負對照物的抗 PE 抗體培育。以 FACSCalibur 儀器(BD Biosciences)分析細胞且使用 FlowJo 軟體處理數據。

[0671] 鑑別出數種結合人類 TIGIT 之融合瘤且選擇抗體 313M26。313M26 的重鏈可變區和輕鏈可變區之胺基酸序列分別為 SEQ ID NO：63 和 SEQ ID NO：64。313M26 的重鏈可變區和輕鏈可變區之核苷酸序列分別為 SEQ ID NO：65 和 SEQ ID NO：66。

[0672] 313M26 抗體係使用那些熟習本技領域者已知的標準技術人源化。313M26 之人源化變型在本文稱為

313M32 且為 IgG1 抗體。313M32 的重鏈可變區和輕鏈可變區之胺基酸序列分別為 SEQ ID NO：67 和 SEQ ID NO：68。313M32 的重鏈可變區和輕鏈可變區之核苷酸序列分別為 SEQ ID NO：73 和 SEQ ID NO：74。將 313M26/313M32 之重鏈和輕鏈 CDR 列示於本文的表 2 中 (SEQ ID NO：57-62)。具有預測信號序列之 313M32 的重鏈之胺基酸序列為 SEQ ID NO：69 及不具有預測信號序列之 313M32 的重鏈之胺基酸序列為 SEQ ID NO：70；具有預測信號序列之 313M32 的輕鏈之胺基酸序列為 SEQ ID NO：71 及不具有預測信號序列之 313M32 的輕鏈之胺基酸序列為 SEQ ID NO：72。313M32 的重鏈和輕鏈之核苷酸序列分別為 SEQ ID NO：75 和 SEQ ID NO：76。

[0673] 編碼 313M32 抗體的重鏈可變區之質體係在 2015 年 8 月 11 日依照布達佩斯條約之條款寄存於美國菌種保存中心 (ATCC)，10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA 且以 PTA-122346 編號。編碼 313M32 抗體的輕鏈可變區之質體係在 2015 年 8 月 11 日依照布達佩斯條約之條款寄存於美國菌種保存中心 (ATCC)，10801 University Boulevard, Manassas, VA, USA 且以 PTA-122347 編號。

[0674] 篩選與來自許多不同物種的 TIGIT 蛋白質結合之人源化抗 TIGIT 抗體 313M32。測定出 313M32 強力結合人類 TIGIT 及不結合來自任何其他測試之物種的 TIGIT，包括小鼠、大鼠、天竺鼠、兔子、狨猴、豬、

狗、恆河猴和食蟹獼猴。這與在 OncoMed Pharmaceuticals 所產生的另一抗 TIGIT 抗體：313R19 相反，其與除了天竺鼠以外的所有該等物種之 TIGIT 結合。抗體 313R19 為原來經鑑別為與小鼠及人類 TIGIT 二者結合之兔子抗 TIGIT 抗體(313R12)的人源化變型。表 5 總結抗 TIGIT 抗體及與小鼠、人類、食蟹獼猴和恆河猴 TIGIT 之結合。

表5

抗體	起源	骨架	型式	結合 mTIGIT	結合 hTIGIT	結合 cynoTIGIT	結合 rhTIGIT
313R12	兔子	mIgG2a		是	是	否	否
313R19	313R12	hIgG1	人源化	是	是	是	是
313M26	小鼠	mIgG2a		否	是	ND	ND
313M32	313M26	hIgG1	人源化	否	是	否	否

實施例 16

阻斷人類 TIGIT 與 PVR 結合之抗 TIGIT 抗體的 FACS 分析

[0675] 細胞表面人類 TIGIT 蛋白質係藉由使用標準的重組 DNA 技術接合人類 TIGIT 之胺基酸 22-141 與 CD4 之跨膜結構域及 C-端 GFP 蛋白質標籤(hTIGIT-CD4TM-GFP)而產生。PVR-Fc 建構體係使用標準的重組 DNA 技術而產生。人類 PVR 的細胞外結構域尤其於框內與兔子 Fc 區接合且重組 hPVR-rbFc 蛋白質表現在 CHO 細胞中。融合蛋白係來自細胞培養基使用蛋白質 A 層析術純化而來。

[0676] 將 HEK-293T 細胞以 TIGIT-CD4TM-GFP 建構體過渡性轉染。在 16 小時之後，將轉染之細胞懸浮在含有 2% FBS 及肝素之冰冷的 HBSS 中且與 50 微克/毫升之 hPVR-rbFc 融合蛋白在抗 TIGIT 抗體 313R19、313M26 或 313M32 的存在下於冰上培育 60 分鐘。抗體 313R19 為兔子抗 TIGIT 抗體之人源化變型。313R19 結合小鼠及人類 TIGIT。抗體係以 10、2 和 0.4 微克/毫升濃度測試。細胞不與抗體或不與 hPVR-rbFc 培育，作為對照物。以 100 微升 PE 共軛之抗兔子 Fc 二級抗體進行第二次培育，以檢測以 hPVR-rbFc 融合蛋白結合之細胞。以 FACSCanto 儀器 (BD Biosciences) 分析細胞且使用 FlowJo 軟體處理數據。

[0677] 如圖 19A 中所示，hPVR-rbFc 在沒有任何抗 TIGIT 抗體的存在下與表現在 HEK-293T 細胞表面上的 hTIGIT 強力結合。所有三種抗 TIGIT 抗體在 10 微克/毫升之最高濃度下阻斷 hPVR-rbFc 與 hTIGIT 結合。然而，313R19 抗體在 2 微克/毫升和 0.4 微克/毫升抗體之較低濃度下不阻斷 hPVR-rbFc 與 hTIGIT 結合。相反地，抗 hTIGIT 抗體 313M32 在 2 微克/毫升下強力阻斷 hPVR-rbFc 與 hTIGIT 結合且阻斷程度比親代小鼠抗體 313M26 更高。該等結果示意人源化 313M32 抗體對 hTIGIT 之親和性比親代抗體 313M26 和抗體 313R19 更高。使用 10、5、2.5 和 1.25 微克/毫升濃度的抗體 313R19 和抗體 313M32 進行額外的實驗(圖 19B)。自該兩個研究的結果示意抗體 313M32 對 hTIGIT 之親和性比抗體 313R19 高約 5

倍。另外，初步 Biacore 結果顯示 313R19 之親和性為 2nM 及 313M32 之親和性為 0.4nM。

實施例 17

TIGIT 傳訊及 TIGIT 磷酸化

[0678] TIGIT 係在與其相反受體 PVR 交互作用之後於其胞質尾區磷酸化。TIGIT 磷酸化為級聯的開始，該級聯包括影響其他已知的傳訊途徑之下游事件。因此，評估 TIGIT 磷酸化可給出關於 TIGIT 功能及 TIGIT 拮抗劑效應之訊息。

[0679] Jurkat CD4+人類 T 細胞系缺乏人類 TIGIT 表現，如以即時 PCR 及 FACS 所測定(未顯示數據)。為了產生 TIGIT 表現之細胞系，將 Jurkat 細胞以表現以 FLAG 及綠螢光蛋白(GFP)標籤化之人類 TIGIT (hTIGIT)的慢病毒建構體感染。將 GFP-陽性細胞使用 FACS Aria II 細胞分類器(BD Biosciences)分類至 96 槽孔盤中，將單細胞擴展成克隆且選擇克隆細胞系(Jurkat-hTIGIT)。

[0680] 721.221 人類 B 細胞淋巴瘤系缺乏 PVR 表現，如以即時 PCR 及 FACS 所測定(未顯示數據)。為了產生 PVR 表現之細胞系，將 721.221 細胞以表現人類 PVR (hPVR)及 GFP 之慢病毒建構體感染。將 GFP-陽性細胞使用 FACS Aria II 細胞分類器(BD Biosciences)分類至 96 槽孔盤中，將單細胞擴展成克隆且選擇克隆細胞系(721.221-hPVR)。

[0681] 為了評估反應 PVR 之 TIGIT 磷酸化，將 Jurkat-hTIGIT 細胞在 37°C 下於無血清培養基中培育 2 小時。接著將細胞在室溫下以 20 微克/毫升之抗 TIGIT 抗體 313R19、313M26 或 313M32 或對照抗體預處理 20 分鐘。將 Jurkat-hTIGIT 細胞與親代 721.221 細胞或 721.221-mPVR 細胞以 5:1 之細胞比混合且在 37°C 下於酪胺酸磷酸酶抑制劑(10mM 釩酸鈉，New England Biolabs)的存在下培育 5 分鐘。製備細胞溶解物且以捕獲經 FLAG-標籤化之 hTIGIT 蛋白質的經抗 FLAG-包覆之磁珠免疫沉澱。將免疫沉澱物在 4-12% Bis-Tris 凝膠(Novex/Life Technologies)上分離且使用 iBlot 2 裝置(Life Technologies)轉移至硝化纖維薄膜。將薄膜與辣根過氧化酶共軛之抗酪胺酸抗體培育且使用標準的檢測試劑觀察磷酸化之 TIGIT (pTIGIT)。使用抗 FLAG 抗體(Cell Signaling Technology)評估存在的總 TIGIT。

[0682] 觀察出 hTIGIT 在反應 hPVR 表現之腫瘤細胞的 Jurkat 細胞中高度磷酸化。此磷酸化係在抗 TIGIT 抗體(尤其為 313M32 抗體)的存在下受到抑制(圖 20)。

實施例 118

抗原決定區定位

抗 hTIGIT 抗體之抗原決定區定位

[0683] 為了鑑別抗體 313M32 之結合抗原決定區，以具有特異性胺基酸取代之一系列人類 TIGIT 變體進行分

析。變體係建基於人類 TIGIT 與食蟹獼猴 TIGIT 分別為 SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列之間的差別。恆河猴 TIGIT 之胺基酸序列(SEQ ID NO: 78)與食蟹獼猴 TIGIT 相同(圖 21)。將胺基酸變體引入在食蟹獼猴 TIGIT 中存在的胺基酸殘基至人類 TIGIT 中的對應位置中。所產生之 hTIGIT 變體具有在(1)E36K 和 I41V; (2)T51M; (3)Q62H 和 Q64H; (4)D72E; (5)S78Y 和 S80A; (6)V100M; (7)I109T 和 T119R; 及(8)G135S 上的取代。各變體 hTIGIT 係使用實施例 12 中所述之 hTIGIT (aa 22-141)-CD4TM-GFP 建構體而產生。

[0684] TIGIT 變體係藉由 FACS 以抗 hTIGIT 抗體評估。將 HEK-293T 細胞以 hTIGIT-CD4TM-GFP、mTIGIT-CD4TM-GFP 或變體 hTIGIT-CD4TM-GFP 建構體中之一者過渡性轉染。在 16 小時之後，將轉染之細胞懸浮在含有 2% FBS 之冰冷的 HBSS 中且與 1 微克/毫升之抗 hTIGIT 抗體 313R12、313M32 或 313M34/10A7 於冰上培育 30 分鐘。313M34 為建基於美國公開案 2009/0258013 中所述之 10A7 抗體的胺基酸序列所產生之抗 hTIGIT 抗體。10A7 抗體為結合小鼠 TIGIT 及人類 TIGIT 二者之抗小鼠 TIGIT 抗體。以 50 微升 PE 共軛之抗 Fc 二級抗體進行第二次培育，以檢測以抗體結合之細胞。以 FACSCalibur 儀器(BD Biosciences)分析細胞且使用 FlowJo 軟體處理數據。

[0685] 如圖 22 中所示，抗體 313M32 不與在胺基酸殘基 62 和 64 上具有取代之 TIGIT 變體 3 及在胺基酸殘基

109 和 119 上具有取代之 TIGIT 變體 7 結合。抗體保留其與 hTIGIT 及 TIGIT 變體 1、2、4、5、6 和 8 之強力結合。在與 PVR 結合之 TIGIT 的晶體結構之圖像上以黑色強調胺基酸殘基 62、64、109 和 119(圖 23)。人類 TIGIT 的結構係以球形圖像顯示及 PVR 的結構係以條狀圖像提供。胺基酸的位置揭露抗體 313M32 係在應該以 PVR 結合來阻斷及/或干擾之區域內結合 hTIGIT。值得注意的是抗體 313R12 亦損失與在胺基酸殘基 109 和 119 上具有取代之 TIGIT 變體 7 之結合，示意 313R12 結合與以 313M32 結合之抗原決定區重疊的抗原決定區。有趣的是抗體 313M34/10A7 與 TIGIT 之結合不受 TIGIT 變體 3 或變體 7 之胺基酸取代的衝擊，但是受到在 TIGIT 變體 6 的殘基 100 之胺基酸取代的衝擊。這結果顯示抗體 313M34/10A7 不結合與抗體 313M32 相同的抗原決定區。抗體 313M32 和 313M34/10A7 對 TIGIT 之關鍵結合殘基的相對位置顯示於圖 23 的圖像上。

[0686] 為了確認抗體 313M26 (313M32 之親代鼠類抗 hTIGIT 抗體)及 313R19 (自 313M32 所產生的人源化兔子抗 hTIGIT 抗體)結合共同的抗原決定區，所以進行競爭研究。因為 313M26 及 313R19 抗體之 Fc 部分不同，亦即分別為鼠類 Fc 及人類 Fc，所以可測定一種抗體(313R19)在第二種抗體(313M26)的存在或不存在下之結合。簡言之，將 HEK-293T 細胞以編碼人類 TIGIT-CD4TM-GFP 之表現載體過渡性轉染。將細胞與 0.5 微克抗體 313M19 及過量

抗體 313M26(從 50 至 0.78 微克/毫升，2 倍稀釋)培育 1 小時。清洗細胞且與對人類 Fc 具有特異性的經螢光標記之二級抗體培育，且以流動式細胞測量術分析。

[0687] 如圖 24A 中所示，抗體 313M26 與 313R19 競爭與 hTIGIT 結合且過量 313M26 有效地阻斷 313R19 與 hTIGIT 結合。該等數據表示 313M26/313M32 及 313R12/313R19 結合至重疊之抗原決定區且與圖 23 中所呈現之抗原決定區分析一致。在並行的實驗中檢查 313R19 或 313M32 與 313M34/10A7 競爭與 TIGIT 結合的能力。如圖 24B 中所示，觀察到 313R19 或 313M32 抗體不與 313M34/10A7 競爭與 hTIGIT 結合。該等結果表示 313R19 及 313M32 結合至與以 313M34/10A7 結合之抗原決定區不同的抗原決定區。該等結果亦與圖 23 中所呈現之抗原決定區分析一致。

實施例 19

細胞激素生產

[0688] TIGIT 與表現在腫瘤細胞或抗原呈現細胞上的 PVR (CD155)之接合已顯示出向下調節 T 細胞效應子功能且抑制抗腫瘤免疫反應(參見例如 Joller 等人之 2014, *Immunity*, 40:569-581)。研究抗 TIGIT 抗體 313R19 及 313M32 阻斷經 PVR 媒介之抑制 T 細胞激素分泌的能力。活化之人類 T 細胞芽係藉由初代人類 T 細胞與植物血球凝集素(PHA，2 微克/毫升)及 IL-2(4 毫微克/毫升)培養 10 天

而產生。將細胞芽靜置於無 PHA/IL-2 培養基中 24 小時，以 5×10^5 個細胞/毫升再懸浮且在室溫下以 10 或 25 微克/毫升之對照抗體(多克隆人類 IgG, 25 微克/毫升)、抗 TIGIT 抗體 313R19 或 313M32 處理 15 分鐘。接著將細胞平鋪於已在 4℃ 下以抗 CD3 抗體(Ebioscience)、人類 PVR-Fc 或抗 CD3 抗體及 hPVR-Fc(各以 10 微克/毫升)包覆隔夜之槽孔中。在 48 小時之後收獲無細胞培養物上清液且以 ELISA (R&D Systems)測定 IFN- γ 及 IL-2 細胞激素。結果係以相對於單獨的抗 CD3 活化之細胞所產生的細胞激素來表示，其中抗 CD3 細胞激素量設定在 1.0。

[0689] 如圖 25 中所見，hPVR-Fc 不在活化之細胞中誘發 IFN- γ 或 IL-2 生產。然而，hPVR-Fc 強力抑制藉由抗 CD3 接合而誘發之細胞激素生產。這抑制係以抗 TIGIT 抗體 313R19 及 313M32 反轉，且以 25 微克/毫升之較高劑量生產之 IFN- γ 或 IL-2 實際上比以抗 CD3 所產生的量更大。活化之 T 細胞表現 TIGIT 及 CD226 二者，且二者可與 PVR 交互作用，但是 TIGIT/PVR 交互作用是受抑制的及 CD226/PVR 交互作用經活化。不想受到理論的束縛，示意當活化之 T 細胞與 PVR 接觸時，以 TIGIT/PVR 交互作用“勝出”，因為 TIGIT 比 CD226 更強力結合 PVR。另外，似乎在活化之 T 細胞上的 TIGIT 量比 CD226 更高，所以整體交互作用是受抑制的。例如，在圖 25 中比較單獨的抗 CD3 與抗 CD3 加上 PVR。當 TIGIT 以 313R19 或 313M32 阻斷時，則經 TIGIT 媒介之抑制作用

反轉，但是理論上仍發生 CD226/PVR 交互作用，且該交互作用經活化。因此，如圖 25 中所見，當阻斷 TIGIT 且以抗 CD3 加上 PVR 刺激 T 細胞時，則 IFN- γ 量實際上比以單獨的抗 CD3 刺激時更高。

[0690] 該等結果證明以抗 TIGIT 抗體阻斷人類 TIGIT 可阻擾 TIGIT/PVR 交互作用且修復有益於抗腫瘤反應之細胞激素生產。

實施例 20

經抗體依賴性細胞媒介之細胞毒性檢定法

[0691] 經抗體依賴性細胞媒介之細胞毒性(ADCC)係指藉由細胞毒性效應子細胞通過非噬菌細胞過程殺死以抗體包覆之標靶細胞，通常以釋放細胞毒性顆粒或表現細胞死亡誘發分子為特徵。媒介 ADCC 之效應子細胞包括自然殺手(NK)細胞、單核球、巨噬細胞、嗜中性細胞、嗜酸性細胞和樹突細胞。研究抗 TIGIT 抗體 313R19 及 313M32 媒介 NK 細胞 ADCC 的能力。ADCC 係在使用初代人類 NK 細胞作為效應子及親代 Jurkat 細胞或 Jurkat-hTIGIT 細胞作為標靶之標準的 4 小時鈣黃綠素釋放檢定法測試。在 Ficoll-Hypaque (Sigma)密度梯度離心之前，藉由與 RosetteSep 混合液(Stem Cell Technologies)培育 30 分鐘而自新鮮周圍血液膚色血球層(Stanford Blood Center, Palo Alto, CA)直接分離出人類 NK 細胞。將標靶親代 Jurkat 或 Jurkat-hTIGIT 細胞在 37°C 下以 10 μ M 鈣黃綠素 AM (Life

Technologies)經 1 小時標記且接著在室溫下以對照多克隆 IgG 抗體、抗 TIGIT 抗體 313R19 或抗 TIGIT 抗體 313M32(全部皆以 10 微克/毫升)處理 15 分鐘。在培育之後，將 Jurkat 或 Jurkat-hTIGIT 細胞與 NK 細胞以 20:1 之效應子:標靶比於 96 槽孔 V 形底盤中組合。在 37°C 下培育 4 小時之後，收獲無細胞上清液血液且在螢光計上以 485 奈米激發及 535 奈米放射下定量鈣黃綠素釋放。特異性細胞溶解百分比係如下測定： $\text{溶解}\% = 100 \times (\text{ER} - \text{SR}) / (\text{MR} - \text{SR})$ ，其中 ER、SR 及 MR 分別代表實驗釋放、自發性釋放及最大鈣黃綠素釋放。自發性釋放為在培養基中單獨培育的標靶細胞發射之螢光(亦即在沒有效應子細胞的存在下)，而最大釋放係藉由以等體積的 10% SDS 溶解標靶細胞來測定。Jurkat 及 Jurkat-hTIGIT 細胞系二者的 ADCC 百分比係以在實驗抗體(313R19 或 313M32)存在下的特異性溶解百分比減去在對照抗體存在下的特異性溶解百分比來測定。

如圖 26 中所示，當標靶細胞表現 TIGIT 時，ADCC 百分比在抗 TIGIT 抗體 313R19 及 313M32 的存在下顯著地增加。以抗 TIGIT 抗體誘發 ADCC 的能力能示意抗 TIGIT 抗體可具有多重機制用於增強對腫瘤細胞的免疫反應。

實施例 21

在人源化小鼠中以抗 TIGIT 抗體於活體內腫瘤生長抑制

[0692] 使用人源化小鼠模式研究抗 TIGIT 抗體對人類腫瘤的治療效能。人源化小鼠係自 Jackson Laboratories 獲得。該等小鼠係藉由以人類造血幹細胞(CD34+細胞)注射至經照射之 NSG 小鼠中而產生。在 15 週之後，以流動式細胞測量術確認存在的成熟人類淋巴細胞。將各小鼠經皮下注射源自患者的黑色素瘤腫瘤細胞(OMP-M9，75,000 個細胞/小鼠)。容許腫瘤生長 19 天，直到其達到約 50 立方毫米平均體積。將攜腫瘤的小鼠隨機分組(每組 $n = 8$)。將攜腫瘤的小鼠以對照抗體、抗 TIGIT 抗體 313R19 或抗 TIGIT 抗體 313M32 治療。小鼠係以每 5 天給藥 1 毫克/公斤或 5 毫克/公斤。監測腫瘤生長且以電子式卡尺在指示之時間點測量腫瘤體積。

[0693] 如圖 27 中所示，與對照組相比，在以抗體 313R19 及抗體 313M32 治療之小鼠中的腫瘤生長受到抑制。該等結果顯示靶定之 TIGIT 有效於提高人類淋巴細胞的抗腫瘤免疫反應且促成於活體內抑制人類腫瘤生長。在此實驗中，抗 TIGIT 抗體 313R19 或 313M32 與抗 hPD-1 抗體之組合不抑制腫瘤生長至任何比作為單一劑之抗 TIGIT 抗體更大的程度(未顯示數據)。

[0694] 頃發現抗體 313M32 及 313R19 抑制人類淋巴細胞環境的腫瘤生長且具有類似的活體內效力。該等結果證明可以攜源自患者的異種移植物之人源化小鼠模式用於研究抗 TIGIT 抗體 313M32(其僅結合人類 TIGIT)，同時用於以抗 TIGIT 抗體 313R12 及 313R19 和鼠類腫瘤模式

進行的臨床前研究。

實施例 22

抗 TIGIT 抗體之藥物動力學

[0695] 如本文所述，抗 TIGIT 抗體 313R12 優先與小鼠 TIGIT 結合且其為大部分的臨床前效能研究所使用的小鼠替代分子。在 C57BL-6J 小鼠中以 0.1、1 和 10 毫克/公斤之劑量測定抗 TIGIT 抗體 313R12 之藥物動力學(PK)。採集 21 天內的血液樣品。

[0696] 313R12 在所研究之劑量值下展現非線性 2 室 PK 特徵。咸信此濃度依賴性清除為單克隆抗體之典型特性，當標靶豐富且以藥物可輕易接近時，經標靶媒介之清除可能為整體消除機制的重要成分。10 毫克/公斤之 313R12 的濃度時間分布於 21 天內接近於線性，示意可及的標靶分子飽和。終末半衰期的評估不適用於非線性 PK 數據。

[0697] 抗 TIGIT 抗體 313R19 之 PK 係在 Balb/c 小鼠中測定。將 10 毫克/公斤之單一劑量經 IV 或 IP 給予各小鼠。採集 21 天內的血液樣品。

[0698] 313R19 展現具有典型的 IgG 清除之線性 2 室 PK 特徵。在小鼠中的 10 毫克/公斤之終末半衰期經評估為 7.6 天。

[0699] 亦在食蟹獼猴中測定抗 TIGIT 抗體 313R19 之 PK。將 10、30 和 100 毫克/公斤之劑量以每週兩次給予各

動物，經四次劑量。各劑量組為 4 隻雄性動物且研究係在第四劑量之後終止，沒有回復期。

[0700] 在食蟹獼猴中的 313R19 展現具有典型的 IgG 清除之線性 2 室 PK 特徵。在食蟹獼猴中的終末半衰期經評估為 15.3 天。

[0701] 抗 TIGIT 抗體 313M32 之藥物動力學係在 Balb/c 小鼠中測定。將 1 或 10 毫克/公斤之單一劑量經 IV 或將 10 毫克/公斤經 IP 給予各小鼠。採集 21 天內的血液樣品。

[0702] 在小鼠中的 313M32 展現線性 2 室 PK 特徵，這與 313M32 與小鼠 TIGIT 具有不可檢測的結合之事實一致。清除緩慢且初步證明典型的 IgG PK 行為。在小鼠中的終末半衰期經評估為 11.7 天。

[0703] 應瞭解本文所述之實施例及實施態樣僅以例證為目的，且根據該等的各種修改或變化建議給熟習本技術領域者，且各種修改或變化包括在本申請案的精神及權限內。

[0704] 本文所引用之所有公開資料、專利、專利申請案、網站及編號/資料庫序列(包括多核苷酸和多肽序列)全部皆以相同程度的目的以彼之完整內容特此併入本文以供參考，如同每一個別的公開資料、專利、專利申請案、網站及編號/資料庫序列係經具體且個別地指示而因此併入以供參考。

[0705] 下列為本申請案所揭示之序列：

小鼠 TIGIT 胺基酸序列 (SEQ ID NO : 1)

MHGWL L L V W V Q G L I Q A A F L A T A I G A T A G T I D T K R N I S A E E G G S V I L Q C H F S S D T A E V T Q V
D W K Q Q D Q L L A I Y S V D L G W H V A S V F S D R V V P G P S L G L T F Q S L T M N D T G E Y F C T Y H T Y P G G I
Y K G R I F L K V Q E S S D D R N G L A Q F Q T A P L G G T M A A V L G L I C L M V T G V T V L A R K D K S I R M H S I
E S G L G R T E A E P Q E W N L R S L S S P G S P V Q T Q T A P A G P C G E Q A E D D Y A D P Q E Y F N V L S Y R S L E
S F I A V S K T G

不具有預測信號序列之小鼠 TIGIT 胺基酸序列 (SEQ ID NO : 2)

T I D T K R N I S A E E G G S V I L Q C H F S S D T A E V T Q V D W K Q Q D Q L L A I Y S V D L G W H V A S V F S D R V
V P G P S L G L T F Q S L T M N D T G E Y F C T Y H T Y P G G I Y K G R I F L K V Q E S S D D R N G L A Q F Q T A P L G
G T M A A V L G L I C L M V T G V T V L A R K D K S I R M H S I E S G L G R T E A E P Q E W N L R S L S S P G S P V Q T
Q T A P A G P C G E Q A E D D Y A D P Q E Y F N V L S Y R S L E S F I A V S K T G

小鼠 TIGIT 細胞外結構域胺基酸序列 (SEQ ID NO : 3)

T I D T K R N I S A E E G G S V I L Q C H F S S D T A E V T Q V D W K Q Q D Q L L A I Y S V D L G W H V A S V F S D R V
V P G P S L G L T F Q S L T M N D T G E Y F C T Y H T Y P G G I Y K G R I F L K V Q E S S D D R N G L A Q F Q T A P L G

人類 TIGIT 胺基酸序列 (SEQ ID NO : 4)

M R W C L L L I W A Q G L R Q A P L A S G M M T G T I E T T G N I S A E K G G S I I L Q C H L S S T T A Q V T Q V N W E
Q Q D Q L L A I C N A D L G W H I S P S F K D R V A P G P G L G L T L Q S L T V N D T G E Y F C I Y H T Y P D G T Y T G
R I F L E V L E S S V A E H G A R F Q I P L L G A M A A T L V V I C T A V I V V V A L T R K K K A L R I H S V E G D L R
R K S A G Q E E W S P S A P S P P G S C V Q A E A P A G L C G E Q R G E D C A E L H D Y F N V L S Y R S L G N C S F F
T E T G

不具有預測信號序列之人類 TIGIT 胺基酸序列 (SEQ ID NO : 5)

M M T G T I E T T G N I S A E K G G S I I L Q C H L S S T T A Q V T Q V N W E Q Q D Q L L A I C N A D L G W H I S P S F
K D R V A P G P G L G L T L Q S L T V N D T G E Y F C I Y H T Y P D G T Y T G R I F L E V L E S S V A E H G A R F Q I P
L L G A M A A T L V V I C T A V I V V V A L T R K K K A L R I H S V E G D L R R K S A G Q E E W S P S A P S P P G S C V
Q A E A P A G L C G E Q R G E D C A E L H D Y F N V L S Y R S L G N C S F F T E T G

人類 TIGIT 細胞外結構域胺基酸序列 (SEQ ID NO : 6)

M M T G T I E T T G N I S A E K G G S I I L Q C H L S S T T A Q V T Q V N W E Q Q D Q L L A I C N A D L G W H I S P S F
K D R V A P G P G L G L T L Q S L T V N D T G E Y F C I Y H T Y P D G T Y T G R I F L E V L E S S V A E H G A R F Q I P

313R11/313R12 重鏈 CDR1 (SEQ ID NO : 7)

G S S L S S Y M S

313R11/313R12/313R14/313R19 重鏈 CDR2 (SEQ ID NO : 8)

I I G S N G N T Y Y A N W A K G

313R11/313R12/313R14/313R19 重鏈 CDR3 (SEQ ID NO : 9)

GGYRTSGMDP

313R11/313R12 輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO : 10)

QASQSISSYLNW

313R11/313R12 輕鏈 CDR2 (SEQ ID NO : 11)

DALKLAS

313R11/313R12 輕鏈 CDR3 (SEQ ID NO : 12)

QQEHSVGNVDN

313R14/313R19 重鏈 CDR1 (SEQ ID NO : 13)

GFSLSSSYMS

313R14/313R19 輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO : 14)

QASQSNIYSDLAW

313R14/313R19 輕鏈 CDR2 (SEQ ID NO : 15)

RASTLAS

313R14/313R19 輕鏈 CDR3 (SEQ ID NO : 16)

QQEHLVAWIYN

313R11/313R12 重鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO : 17)

QVQLESEGGFLFKPTDTLTCTVSGSSLSSSYMSWVRQAPGKGLEWIGIIGSNGNTYYAN
WAKGRFTISKSTTTVELKITSPTTEDTATYFCARGGYRTSGMDPWGPGTLVTVSS

313R11/313R12 輕鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO : 18)

DIVMTQTPASVEVAVGGTVTIKCQASQSISSYLNWYQQKPGQPPKLLIYDALKLASGVPS
RFSGSGSGTEYTLTISGVESADAATYYCQQEHSVGNVDNVFGGGTEVVVKR

313R14 重鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO : 19)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSSSYMSWIRQPPGKGLEWIGIIGSNGNTYYA
NWAKGRVTISKSTTTVELKLSSVTAADTAVYYCARGGYRTSGMDPWGQGTTLVTVSS

313R14/313R19/313R20 輕鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID

NO : 20)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCQASQNIYSDLAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQEHLVAWIYNVFGQGTKVEIKR

具有畫底線的信號序列之 313R11 重鏈(mIgG1)胺基酸序列
(SEQ ID NO : 21)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLESEGGFLFKPTDTLTLTCTVSGSSLSSSYMSWVRQAPG
KGLEWIGIIGSNGNTYYANWAKGRFTISKSTTVELKITSPTTEDTATYFCARGGYRTSG
MDPWGPGTLVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSL
SSGVHTFPAVLES^{DL}YTLSSSVTVPSSPRPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKP
CICTVPEVSSVFIFPPKPKDVL^{TI}TLTPKVT^{CV}VVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQT
QPREEQFNSTFRSVSELPIMH^{QD}WLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVY
TIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSK
LNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTKSLSHSPGK

具有畫底線的信號序列之 313R12 重鏈(mIgG2)胺基酸序列
(SEQ ID NO : 22)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLESEGGFLFKPTDTLTLTCTVSGSSLSSSYMSWVRQAPG
KGLEWIGIIGSNGNTYYANWAKGRFTISKSTTVELKITSPTTEDTATYFCARGGYRTSG
MDPWGPGTLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL
SSGVHTFPAVL^{QSD}LYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP
CPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL^{MIS}LSPIVTCVVDVSEDDPDVQISWFVNVE
VHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQH^{QD}WMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSV
RAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD^{FMP}EDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGGS
YFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

具有畫底線的信號序列之 313R11/313R12 輕鏈胺基酸序列
(SEQ ID NO : 23)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSDIVMTQTPASVEVAVGGTVTIKCQASQSISSYLNWYQQKPG
QPPKLLIYDALKLASGVPSRFSGSGSGTEYTLTISGVESADAATYYCQQEHSVGNVDNVF
GGGTEVVVKRTDAAPT^{VS}IFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV^{KWK}IDGSERQNG
VLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNREK

具有畫底線的信號序列之 313R14 重鏈(hIgG1)胺基酸序列
(SEQ ID NO : 24)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLSSSYMSWIRQPP
GKLEWIGIIGSNGNTYYANWAKGRVTISKSTTVELKLSSVTAADTAVYYCARGGYRTS
GMDPWGQGT^LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV^{FSC}SVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

具有畫底線的信號序列之 313R14/313R19/313R20 輕鏈胺

基 酸 序 列 (SEQ ID NO : 25)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCQASQNIYSDLAWYQQKP
GKAPKLLIYRASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSLPEDFATYYCQQEHLVAWIYNV
FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

不 具 有 信 號 序 列 之 313R11 重 鏈 (mIgG1) 胺 基 酸 序 列 (SEQ
ID NO : 26)

QVQLESEGGFLFKPTDTLTCTVSGSSSLSSSYMSWVRQAPGKGLEWIGIIGSNGNTYYAN
WAKGRFTISKSTTTVELKITSPTTEDTATYFCARGGYRTSGMDPWGPGLTVTVSSAKTTP
PSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLESPLYTSL
SSVTVPSSPRPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFI FPPKPK
DVLTTITLTPKVTCTVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELP
MHQDWLNGKEFKCRVNSAAPPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTI PPPKEQMAKDKVSLTCM
ITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMNNTNGSYFVYSKLVNQKSNWEAGNTFTCSVL
HEGLHNHHTKSLSHSPGK

不 具 有 信 號 序 列 之 313R12 重 鏈 (mIgG2) 胺 基 酸 序 列 (SEQ
ID NO : 27)

QVQLESEGGFLFKPTDTLTCTVSGSSSLSSSYMSWVRQAPGKGLEWIGIIGSNGNTYYAN
WAKGRFTISKSTTTVELKITSPTTEDTATYFCARGGYRTSGMDPWGPGLTVTVSSAKTTA
PSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTSL
SSVTVTSSWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI
FPPKIKDVLMLISLPIVTCVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV
VSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQ
VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTPEVLDSGSGYFMYSKLRVEKKNWVERNS
YSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

不 具 有 信 號 序 列 之 313R11/313R12 輕 鏈 胺 基 酸 序 列 (SEQ
ID NO : 28)

DIVMTQTPASVEVAVGGTVTIKQASQSISSYLNWYQQKPGQPPKLLIYDALKLASGVPS
RFSGSGSGTEYTLTISGVESADAATYYCQQEHSVGNVDNVFGGGTEVVVKRTDAAPT VSI
FPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKSTYSMS
TLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

不 具 有 信 號 序 列 之 313R14 重 鏈 (hIgG1) 胺 基 酸 序 列 (SEQ
ID NO : 29)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSSSYMSWIRQPPGKGLEWIGIIGSNGNTYYA
NWAKGRVTISKSTTTVELKLSSVTAADTAVYYCARGGYRTSGMDPWGQGLTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPKPKKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSIVTLVHLDWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

不 具 有 預 測 信 號 序 列 之 313R14/313R19/313R20 輕 鏈 胺 基

酸 序 列 (SEQ ID NO : 30)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIYSDLAWYQQKPGKAPKLLIYRASTLASGVPS
RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQEHLVAWIYNVFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS
TLTLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

AH-1 肽 (SEQ ID NO : 31)

SPSYVYHQF

313R19/313R20 重 鏈 可 變 區 胺 基 酸 序 列 (SEQ ID NO : 32)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSSSYMSWIRQPPGKGLEWIGIIGSNGNTYYA
NNAKGRVTISKSSNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYRTSGMDPWGQGTTLTVSS

具有 畫 底 線 的 信 號 序 列 之 313R19 重 鏈 (IgG1) 胺 基 酸 序 列
(SEQ ID NO : 33)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSSSYMSWIRQPP
GKGLEWIGIIGSNGNTYYANNAKGRVTISKSSNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYRTS
GMDPWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDK
THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

不 具有 信 號 序 列 之 313R19 重 鏈 (IgG1) 胺 基 酸 序 列 (SEQ ID
NO : 34)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSSSYMSWIRQPPGKGLEWIGIIGSNGNTYYA
NNAKGRVTISKSSNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYRTSGMDPWGQGTTLTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

連 接 子 (SEQ ID NO : 35)

ESGGGGVT

連 接 子 (SEQ ID NO : 36)

LESGGGGVT

連 接 子 (SEQ ID NO : 37)

GRAQVT

連接子 (SEQ ID NO : 38)

WRAQVT

連接子 (SEQ ID NO : 39)

ARGRAQVT

FLAG 標籤 (SEQ ID NO : 40)

DYKDDDDK

人類 IgG1 重鏈恆定區 (SEQ ID NO : 41)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE
LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG2 重鏈恆定區 (SEQ ID NO : 42)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKTVKCCVECPPCPAPPVAGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR
VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG3 重鏈恆定區 (SEQ ID NO : 43)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSC
DTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEOYNSTFRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVME
ALHNRTQKSLSLSPGK

人類 IgG4 重鏈恆定區 (SEQ ID NO : 44)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVERESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG1 Fc 區 (13A 變型) (SEQ ID NO : 45)

DKTHCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSRDKLTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG1 Fc 區 (13B 變型) (SEQ ID NO : 46)

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG1 Fc 區 (13A 變型) (SEQ ID NO : 47)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDKLTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG1 Fc 區 (13B 變型) (SEQ ID NO : 48)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG2 Fc 區 (13A 變型) (SEQ ID NO : 49)

CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ
REPQVYTLPPSREKMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLKSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG2 Fc 區 (13B 變型) (SEQ ID NO : 50)

CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGS
FFLYSELTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG2 Fc 區 (13A 變型) (SEQ ID NO : 51)

TKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI
EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREKMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPMLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG2 Fc 區 (13A 變型) (SEQ ID NO : 52)

TKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI
EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREKMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPMLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG2 Fc 區 (13B 變型) (SEQ ID NO : 53)

TKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI
EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPMLDSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

人類 IgG2 Fc 區 (13B 變型) (SEQ ID NO : 54)

TKVDKTVVERKSCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVSLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI
EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPMLDSDGSFFLYSELTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

具有畫底線的信號序列之 313R20 重鏈 (IgG4) 胺基酸序列
(SEQ ID NO : 55)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSSSYMSWIRQPP
GKGLEWIGIIIGSNGNTYYANWAKGRVTISKSSNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYRTS
GMDPWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP
CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

不具有信號序列之 313R20 重鏈 (IgG4) 胺基酸序列 (SEQ ID
NO : 56)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSSSYMSWIRQPPGKGLEWIGIIIGSNGNTYYA
NWAKGRVTISKSSNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARGGYRTSGMDPWGQGTLVTVSSASTK
GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
LSSVTVTPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

313M26/313M32 重鏈 CDR1 (SEQ ID NO : 57)

TSDYAWN

313M26/313M32 重鏈 CDR2 (SEQ ID NO : 58)

YISYSGSTSYNPSLRS

313M26/313M32 重鏈 CDR3 (SEQ ID NO : 59)

ARRQVGLGFAY

313M26/313M32 輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO : 60)

KASQDVSTAVA

313M26/313M32 輕鏈 CDR2 (SEQ ID NO : 61)

SASYRYT

313M26/313M32 輕鏈 CDR3 (SEQ ID NO : 62)

QQHYSTP

313M26 重鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO : 63)

DVQLQESGPGGLVKPSQSLSLTCTVTGYISITSDYAWNWRQFPNGKLEWMGYISYSGSTSY
NPSLRSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARRQVGLGFAYWGQGTLVTVSS

313M26 輕鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO : 64)

DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASYRYTGVPD
RFTGSGSGTDFTFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFG

313M26 重鏈可變區核苷酸序列 (SEQ ID NO : 65)

GATGTGCAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCACTGGCTACTCAATCACCAGTGATTATGCCTGGAAGTGGGTCCGGCAG
TTTCCAGGAAACAACTGGAGTGGATGGGCTACATAAGCTACAGTGGTAGCACTAGCTAC
AACCCTCTCTCAGAAGTCGAATCTCTATCACTCGAGACACATCCAAGAACCAGTTCTTC
CTGCAGTTGAATTCTGTGACTACTGAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAAGGAGACAG
GTCGGGCTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCAGCTCA

313M26 輕鏈可變區核苷酸序列 (SEQ ID NO : 66)

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAATTCATGTCCACATCAGTTGGAGACAGGGTCAGC
ATCACCTGCAAGGCCAGTCAGGATGTGAGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCA
GGACAATCTCCTAAACTACTGATTTACTCGGCATCCTACCGGTACACTGGAGTCCCTGAT
CGCTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACGGATTTCACTTTCACCATCAGCAGTGTGCAGGCT
GAAGACCTGGCAGTTTATTACTGTGTCAGCAACATTATAGTACTCCGTGGACGTTCCGGT

313M32 重鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO : 67)

QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCAVSGYSITSDYAWNWRQPPGKLEWIGYISYSGSTSY
NPSLRSRVTISRDTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYCARRQVGLGFAYWGQGTLVTVSS

313M32 輕鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO : 68)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPD
RFGSGSGTDFTFTISSLPEDTATYYCQQHYSTPWTFG

具有畫底線的預測信號序列之 313M32 重鏈(IgG1)胺基酸
序列 (SEQ ID NO : 69)

MDWTWRILFLVAAATGAHSQVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCAVSGYSITSDYAWNWRQPP
PGKLEWIGYISYSGSTSYNPSLRSRVTISRDTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYCARRQV
GLGFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC
DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

不具有信號序列之 313M32 重鏈(IgG1)胺基酸序列 (SEQ ID

NO : 70)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSITSDYAWNWIROPKGLWIGYISYSGSTSY
NPSLRSRVTISRDTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYCARRQVGLGFAYWGQGLVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

具有畫底線的預測信號序列之 313M32 輕鏈胺基酸序列
(SEQ ID NO : 71)

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSTAVAWYQQKP
GKAPKLLIYSASYRYTGVPSTRFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQHYSTPWTFGQ
GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSSTYSLSNTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

不具有信號序列之 313M32 輕鏈胺基酸序列 (SEQ ID NO :
72)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQDVSTAVAWYQQKPKAPKLLIYSASYRYTGVP
RFSGSGSGTDFTFTISSLPEDIATYYCQQHYSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSNTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

313M32 重鏈可變區核苷酸序列 (SEQ ID NO : 73)

CAGGTCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCTGAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCGCTGTCTCTGGTTACTCCATCACCTCCGATTATGCCTGGAAGTGGATTTCGGCAG
CCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGTACATAAGCTACTCTGGTAGCACTAGCTAC
AACCCATCTCTCCGGTCACGGGTCAATATCACGGGACACATCCAAGAACCAGTTCCTC
CTGAAGCTGTCTCTGTGACCGCCGCTGACACCGCCGTGTATTACTGTGCAAGGAGACAG
GTCGGGCTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGAACCCTGGTCACCGTCAGCTCA

313M32 輕鏈可變區核苷酸序列 (SEQ ID NO : 74)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTTGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAAGGCTTCTCAGGATGTGTCTACTGCTGTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACTCTGCATCCTATCGGTACACTGGGGTCCCATCA
AGGTTCTCCGGATCTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATATTGCAACATATTACTGTCAGCAACATTATTCTACTCCTTGGACATTTCGGC

313M32 重鏈 (IgG1) 核苷酸序列 (SEQ ID NO : 75)

ATGGACTGGACCTGGAGGATACTCTTTCTCGTGGCTGCAGCCACAGGAGCCCACTCCCAG
GTCCAGCTGCAGGAGTCTGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCTGAGACCCTGTCCCTCACC
TGCGCTGTCTCTGGTTACTCCATCACCTCCGATTATGCCTGGAAGTGGATTTCGGCAGCCC
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGTACATAAGCTACTCTGGTAGCACTAGCTACAAC
CCATCTCTCCGGTCACGGGTACAAATATCACGGGACACATCCAAGAACCAGTTCTTCCTG
AAGCTGTCTCTGTGACCGCCGCTGACACCGCCGTGTATTACTGTGCAAGGAGACAGGTC
GGGCTGGGGTTTGCTTACTGGGGCCAAGGAACCCCTGGTCAACGTGAGTCCAGTCCAGCACA
AAGGGCCCCCTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCCTTCCCTCCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCC
GCTCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAACCTCT
GGCGCCCTGACCTCTGGCGTGCACACCTTCCCAGCCGTGCTGCAGTCCCTCCGGCCTGTAC
TCCCTGTCTCCGTGGTGACCGTGCCTTCCCTCCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGC
AACGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAGCCTAAGTCTCTGC
GACAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGCCCTGCCCTGAGCTGCTGGGCGGACCTTCCGTG
TTCCTGTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCTGATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTGACC
TGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGATCCTGAGGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGAC
GGCGTGGAGGTGCACAACGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCTAC
CGGGTGGTGTCTGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATAACAAG
TGCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCCGCTCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAAG
GGCCAGCCTCGCGAGCCTCAGGTGTACACCCTGCCACCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAG
AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAG
TGGGAGTCTAACGGCCAGCCCGAGAACAATAACAAGACCACCCCTCCTGTGCTGGACTCC
GACGGCTCCTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGC
AACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGC
CTGTCTCTGTCTCCTGGCAAGTGA

313M32 輕鏈核苷酸序列 (SEQ ID NO : 76)

ATGGTGCTCCAGACCCAGGTCTTCATTTCCCTGCTGCTCTGGATCAGCGGAGCCTACGGG
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTTGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAAGGCTTCTCAGGATGTGTCTACTGCTGTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACTCTGCATCCTATCGGTACACTGGGGTCCCATCA
AGGTTCTCCGGATCTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATATTGCAACATATTACTGTGAGCAACATTATTCTACTCCTTGGACATTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCTCCA
TCTGATGAGCAGCTCAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT
CCCAGAGAGGCCAAAGTCCAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCCGGCAACTCCCAG
GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAACACCCTGACA
CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTATGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGTCTTCCCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGCTAA

食蟹獼猴 TIGIT (SEQ ID NO : 77)

MRWCLFLIWAQGLRQAPLASGMMTGTIETTGNISAKKGGSVILQCHLSSTMAQVTQVNWE
QHDHSLLAIRNAELGWHIYPAFKDRVAPGPGLGLTLQSLTMNDTGEYFCTYHTYPDGT
GRIFLEVLESSVAEHSARFQIPLLGAMAMMLVVICIAVIVVVVLARKKKSLRIHSVESGL
QRKSTGQEEQIPSA SPPGSCVQAEAAPAGLCGEQQGDDCAELHDYFNVLSYRSLGSCSF
FTETG

恆河猴 TIGIT (SEQ ID NO : 78)

MRWCLFLIWAQGLRQAPLASGMMTGTIETTGNISAKKGGSVILQCHLSSTMAQVTQVNWE
QHDHSLLAIRNAELGWHIYPAFKDRVAPGPGLGLTLQSLTMNDTGEYFCTYHTYPDGT
GRIFLEVLESSVAEHSARFQIPLLGAMAMMLVVICIAVIVVVVLARKKKSLRIHSVESGL
QRKSTGQEEQIPSA SPPGSCVQAEAAPAGLCGEQQGDDCAELHDYFNVLSYRSLGSCSF
FTETG

人類 TIGIT 胺基酸 55-70 (SEQ ID NO : 79)

TQVNWEQQDQLLAICN

人類 TIGIT 胺基酸 105-122 (SEQ ID NO : 80)

EYFCIYHTYPDGTGTGRI

313R14/313R19 輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO : 81)

QASQNIYSDLAW

不具有信號序列之 313M33 重鏈(IgG4) Ver2 胺基酸序列
(SEQ ID NO : 82)

QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSITSDYAWNWIROPKGLWIGYISYSGSTSY
NPSLRSRVTISRDTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYCARRQVGLGFAYWGQGTTLTVSSAS
TKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVTPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV
FSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLK

序列表

<110> 安可美德藥物股份有限公司 (ONCOMED PHARMACEUTICALS, INC.)

<120> TIGIT 結合劑和彼之用途

<140> TW105116461

<141> 2016-05-26

<150> US 62/167,582

<151> 2015-05-28

<150> US 62/205,279

<151> 2015-08-14

<150> US 62/313,487

<151> 2016-03-25

<160> 82

<170> PatentIn 版本3.5

<210> 1

<211> 249

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠TIGIT

<400> 1

Met His Gly Trp Leu Leu Val Trp Val Gln Gly Leu Ile Gln Ala
1 5 10 15

Ala Phe Leu Ala Thr Ala Ile Gly Ala Thr Ala Gly Thr Ile Asp Thr
20 25 30

Lys Arg Asn Ile Ser Ala Glu Glu Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys
35 40 45

His Phe Ser Ser Asp Thr Ala Glu Val Thr Gln Val Asp Trp Lys Gln
50 55 60

Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Tyr Ser Val Asp Leu Gly Trp His Val
65 70 75 80

Ala Ser Val Phe Ser Asp Arg Val Val Pro Gly Pro Ser Leu Gly Leu
85 90 95

Thr Phe Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr
100 105 110

Tyr His Thr Tyr Pro Gly Gly Ile Tyr Lys Gly Arg Ile Phe Leu Lys
115 120 125

Val Gln Glu Ser Ser Asp Asp Arg Asn Gly Leu Ala Gln Phe Gln Thr
130 135 140

Ala Pro Leu Gly Gly Thr Met Ala Ala Val Leu Gly Leu Ile Cys Leu
145 150 155 160

Met Val Thr Gly Val Thr Val Leu Ala Arg Lys Asp Lys Ser Ile Arg
165 170 175

Met His Ser Ile Glu Ser Gly Leu Gly Arg Thr Glu Ala Glu Pro Gln
180 185 190

Glu Trp Asn Leu Arg Ser Leu Ser Ser Pro Gly Ser Pro Val Gln Thr
195 200 205

Gln Thr Ala Pro Ala Gly Pro Cys Gly Glu Gln Ala Glu Asp Asp Tyr
210 215 220

Ala Asp Pro Gln Glu Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Glu
225 230 235 240

Ser Phe Ile Ala Val Ser Lys Thr Gly
245

<210> 2
<211> 221
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 小鼠TIGIT

<400> 2

Thr Ile Asp Thr Lys Arg Asn Ile Ser Ala Glu Glu Gly Gly Ser Val
1 5 10 15

Ile Leu Gln Cys His Phe Ser Ser Asp Thr Ala Glu Val Thr Gln Val
20 25 30

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

Gly Trp His Val Ala Ser Val Phe Ser Asp Arg Val Val Pro Gly Pro
50 55 60

Ser Leu Gly Leu Thr Phe Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu
65 70 75 80

Tyr Phe Cys Thr Tyr His Thr Tyr Pro Gly Gly Ile Tyr Lys Gly Arg
85 90 95

Ile Phe Leu Lys Val Gln Glu Ser Ser Asp Asp Arg Asn Gly Leu Ala
100 105 110

Gln Phe Gln Thr Ala Pro Leu Gly Gly Thr Met Ala Ala Val Leu Gly
115 120 125

Leu Ile Cys Leu Met Val Thr Gly Val Thr Val Leu Ala Arg Lys Asp
130 135 140

Lys Ser Ile Arg Met His Ser Ile Glu Ser Gly Leu Gly Arg Thr Glu
145 150 155 160

Ala Glu Pro Gln Glu Trp Asn Leu Arg Ser Leu Ser Ser Pro Gly Ser
165 170 175

Pro Val Gln Thr Gln Thr Ala Pro Ala Gly Pro Cys Gly Glu Gln Ala
180 185 190

Glu Asp Asp Tyr Ala Asp Pro Gln Glu Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr
195 200 205

Arg Ser Leu Glu Ser Phe Ile Ala Val Ser Lys Thr Gly
210 215 220

<210> 3
<211> 120

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 小鼠TIGIT細胞外功能域

<400> 3

Thr Ile Asp Thr Lys Arg Asn Ile Ser Ala Glu Glu Gly Gly Ser Val
1 5 10 15

Ile Leu Gln Cys His Phe Ser Ser Asp Thr Ala Glu Val Thr Gln Val
20 25 30

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

Gly Trp His Val Ala Ser Val Phe Ser Asp Arg Val Val Pro Gly Pro
50 55 60

Ser Leu Gly Leu Thr Phe Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu
65 70 75 80

Tyr Phe Cys Thr Tyr His Thr Tyr Pro Gly Gly Ile Tyr Lys Gly Arg
85 90 95

Ile Phe Leu Lys Val Gln Glu Ser Ser Asp Asp Arg Asn Gly Leu Ala
100 105 110

Gln Phe Gln Thr Ala Pro Leu Gly
115 120

<210> 4
<211> 244
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類TIGIT

<400> 4

Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn

20 25 30

Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
 35 40 45

Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln
 50 55 60

Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser
 65 70 75 80

Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln
 85 90 95

Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr
 100 105 110

Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu
 115 120 125

Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly
 130 135 140

Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val
 145 150 155 160

Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu
 165 170 175

Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser
 180 185 190

Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala
 195 200 205

Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
 210 215 220

Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
 225 230 235 240

Thr Glu Thr Gly

<210> 5
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類TIGIT

<400> 5

Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln
20 25 30

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60

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

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110

His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly Ala Met Ala Ala Thr
115 120 125

Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val Val Ala Leu Thr Arg
130 135 140

Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu Gly Asp Leu Arg Arg
145 150 155 160

Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Pro

165

170

175

Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala Gly Leu Cys Gly Glu

180185190

Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp Tyr Phe Asn Val Leu

195200205

Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe Thr Glu Thr Gly

210215220

<210> 6

<211> 120

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 小鼠TIGIT細胞外功能域

<400> 6

Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys

151015

Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln

202530

Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys

354045

Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val

505560

Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn

65707580

Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr

859095

Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu

100105110

His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro

115120

<210> 7
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 313R11/313R12 重鏈 CDR1

<400> 7

Gly Ser Ser Leu Ser Ser Ser Tyr Met Ser
 1 5 10

<210> 8
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 313R11/313R12/313R14/313R19 重鏈 CDR2

<400> 8

Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 9
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 313R11/313R12/313R14/313R19 重鏈 CDR3

<400> 9

Gly Gly Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro
 1 5 10

<210> 10
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 313R11/313R12 輕鏈 CDR1

<400> 10

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp

1 5 10

<210> 11
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R11/313R12 輕鏈CDR2

<400> 11

Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R11/313R12 輕鏈CDR3

<400> 12

Gln Gln Glu His Ser Val Gly Asn Val Asp Asn
1 5 10

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14/313R19 重鏈CDR1

<400> 13

Gly Phe Ser Leu Ser Ser Ser Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 14
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14/313R19 輕鏈CDR1

<400> 14

Gln Ala Ser Gln Ser Asn Ile Tyr Ser Asp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14/313R19 輕鏈CDR2

<400> 15

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14/313R19 輕鏈CDR3

<400> 16

Gln Gln Glu His Leu Val Ala Trp Ile Tyr Asn
1 5 10

<210> 17
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R11/313R12 重鏈可變區

<400> 17

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

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

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

Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly

50 55 60

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

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly
85 90 95

Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 18
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R11/313R12 輕鏈可變區

<400> 18

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Ser
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Glu His Ser Val Gly Asn
85 90 95

Val Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110

<210> 19
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14 重鏈可變區

<400> 19

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
50 55 60
Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Glu Leu Lys Leu
65 70 75 80
Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
85 90 95
Gly Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 20
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14/313R19/313R20 輕鏈可變區

<400> 20

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

<210> 21
<211> 458
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R11 重鏈(mIgG1)

<220>
<221> 訊號肽
<222> (1)..(19)

<400> 21

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15
Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Glu Ser Glu Gly Gly Leu Phe Lys Pro
20 25 30
Thr Asp Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Leu Ser
35 40 45
Ser Ser Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

50		55		60
Trp 65	Ile	Gly	Ile	Ile
		Gly 70	Ser	Asn
			Gly	Asn
			Thr 75	Tyr
				Tyr
				Ala
				Asn
				Trp 80
Ala	Lys	Gly	Arg	Phe
				85
			Thr	Ile
			Ser	Lys
			Thr 90	Ser
				Thr
				Thr
				Val
				Glu
				95
Lys	Ile	Thr	Ser	Pro
			100	Thr
				Thr
				Glu
				Asp
				105
				Thr
				Ala
				Thr
				Tyr
				Phe
				110
				Cys
				Ala
Arg	Gly	Gly	Tyr	Arg
				115
				Thr
				Ser
				Gly
				120
				Met
				Asp
				Pro
				Trp
				Gly
				125
				Pro
				Gly
				Thr
Leu	Val	Thr	Val	Ser
				130
				Ser
				Ser
				Ala
				135
				Lys
				Thr
				Thr
				Pro
				Pro
				140
				Ser
				Val
				Tyr
				Pro
Leu	Ala	Pro	Gly	Ser
				145
				Ala
				Ala
				Gln
				Thr
				Asn
				Ser
				155
				Met
				Val
				Thr
				Leu
				Gly
				160
Cys	Leu	Val	Lys	Gly
				165
				Tyr
				Phe
				Pro
				Glu
				Pro
				170
				Val
				Thr
				Val
				Thr
				Trp
				175
				Asn
Ser	Gly	Ser	Leu	Ser
				180
				Ser
				Gly
				Val
				His
				185
				Thr
				Phe
				Pro
				Ala
				Val
				Leu
				Glu
Ser	Asp	Leu	Tyr	Thr
				195
				Leu
				Ser
				Ser
				200
				Val
				Thr
				Val
				Pro
				205
				Ser
				Ser
				Pro
Arg	Pro	Ser	Glu	Thr
				210
				Val
				Thr
				215
				Cys
				Asn
				Val
				Ala
				His
				220
				Pro
				Ala
				Ser
				Ser
Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				225
				Lys
				230
				Ile
				Val
				Pro
				Arg
				Asp
				235
				Cys
				Gly
				Cys
				Lys
				Pro
				240
Cys	Ile	Cys	Thr	Val
				245
				Pro
				Glu
				Val
				Ser
				Ser
				250
				Val
				Phe
				Ile
				Phe
				Pro
				255
				Pro
Lys	Pro	Lys	Asp	Val
				260
				Leu
				Thr
				Ile
				Thr
				265
				Leu
				Thr
				Pro
				Lys
				Val
				Thr
				Cys
				270

Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp
275 280 285

Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser
325 330 335

Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
340 345 350

Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln
355 360 365

Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe
370 375 380

Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe
405 410 415

Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn
420 425 430

Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
435 440 445

Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 22
<211> 464
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R12 重鏈(mIgG2)

<220>

<221> 訊號肽

<222> (1)..(19)

<400> 22

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Glu Ser Glu Gly Gly Leu Phe Lys Pro
20 25 30

Thr Asp Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ser Ser Leu Ser
35 40 45

Ser Ser Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
50 55 60

Trp Ile Gly Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp
65 70 75 80

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Glu Leu
85 90 95

Lys Ile Thr Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
100 105 110

Arg Gly Gly Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro Trp Gly Pro Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro
130 135 140

Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly
145 150 155 160

Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn
165 170 175

Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
180 185 190

Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr
195 200 205

Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
210 215 220

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
245 250 255

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
260 265 270

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
275 280 285

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
290 295 300

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
305 310 315 320

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
325 330 335

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
340 345 350

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
355 360 365

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
370 375 380

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
385 390 395 400

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
420 425 430

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
435 440 445

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 23
<211> 236
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R11/313R12 輕鏈

<220>
<221> 訊號肽
<222> (1)..(19)

<400> 23

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val
20 25 30

Ala Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile
35 40 45

Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys
50 55 60

Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Leu Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg
65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Gly
85 90 95

Val Glu Ser Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Glu His Ser
100 105 110

Val Gly Asn Val Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val
115 120 125

Lys Arg Thr Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser
130 135 140

Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn
145 150 155 160

Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu
165 170 175

Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp
180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr
195 200 205

Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr
210 215 220

Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
225 230 235

<210> 24
<211> 465
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14 重鏈(hIgG1)

<220>
<221> 訊號肽
<222> (1)..(19)

<400> 24

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
35 40 45

Ser Ser Ser Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn
65 70 75 80

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Glu
85 90 95

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Ala Arg Gly Gly Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro Trp Gly Gln Gly
115 120 125

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
130 135 140

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
145 150 155 160

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
165 170 175

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
180 185 190

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
195 200 205

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
210 215 220

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
225 230 235 240

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

				245					250						255		
Ser	Val	Phe	Leu 260	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro 265	Lys	Asp	Thr	Leu	Met 270	Ile	Ser		
Arg	Thr	Pro 275	Glu	Val	Thr	Cys	Val 280	Val	Val	Asp	Val	Ser 285	His	Glu	Asp		
Pro	Glu 290	Val	Lys	Phe	Asn	Trp 295	Tyr	Val	Asp	Gly	Val 300	Glu	Val	His	Asn		
Ala 305	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg 310	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn 315	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val 320		
Val	Ser	Val	Leu	Thr 325	Val	Leu	His	Gln	Asp 330	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys 335	Glu		
Tyr	Lys	Cys	Lys 340	Val	Ser	Asn	Lys	Ala 345	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile 350	Glu	Lys		
Thr	Ile	Ser 355	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln 360	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln 365	Val	Tyr	Thr		
Leu	Pro 370	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu 375	Met	Thr	Lys	Asn	Gln 380	Val	Ser	Leu	Thr		
Cys 385	Leu	Val	Lys	Gly	Phe 390	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile 395	Ala	Val	Glu	Trp	Glu 400		
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro 405	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys 410	Thr	Thr	Pro	Pro	Val 415	Leu		
Asp	Ser	Asp	Gly 420	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr 425	Ser	Lys	Leu	Thr	Val 430	Asp	Lys		
Ser	Arg	Trp 435	Gln	Gln	Gly	Asn	Val 440	Phe	Ser	Cys	Ser	Val 445	Met	His	Glu		
Ala	Leu 450	His	Asn	His	Tyr	Thr 455	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser 460	Leu	Ser	Pro	Gly		

Lys
465

<210> 25
<211> 237
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14/313R19/313R20 輕鏈

<220>
<221> 訊號肽
<222> (1)..(20)

<400> 25

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asn
35 40 45

Ile Tyr Ser Asp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Glu His
100 105 110

Leu Val Ala Trp Ile Tyr Asn Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
115 120 125

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser
130 135 140

Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn
145 150 155 160

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala
165 170 175

Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys
180 185 190

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp
195 200 205

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu
210 215 220

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 26
<211> 439
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R11 重鏈(mIgG1)

<400> 26

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

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

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

Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys Gly
50 55 60

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

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly

				85					90						95
Tyr	Arg	Thr	Ser 100	Gly	Met	Asp	Pro	Trp 105	Gly	Pro	Gly	Thr	Leu 110	Val	Thr
Val	Ser	Ser 115	Ala	Lys	Thr	Thr	Pro 120	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro 125	Leu	Ala	Pro
Gly	Ser 130	Ala	Ala	Gln	Thr	Asn 135	Ser	Met	Val	Thr	Leu 140	Gly	Cys	Leu	Val
Lys 145	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu 150	Pro	Val	Thr	Val	Thr 155	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser 160
Leu	Ser	Ser	Gly	Val 165	His	Thr	Phe	Pro	Ala 170	Val	Leu	Glu	Ser	Asp 175	Leu
Tyr	Thr	Leu	Ser 180	Ser	Ser	Val	Thr	Val 185	Pro	Ser	Ser	Pro	Arg 190	Pro	Ser
Glu	Thr	Val 195	Thr	Cys	Asn	Val	Ala 200	His	Pro	Ala	Ser	Ser 205	Thr	Lys	Val
Asp	Lys 210	Lys	Ile	Val	Pro	Arg 215	Asp	Cys	Gly	Cys	Lys 220	Pro	Cys	Ile	Cys
Thr 225	Val	Pro	Glu	Val	Ser 230	Ser	Val	Phe	Ile	Phe 235	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys 240
Asp	Val	Leu	Thr	Ile 245	Thr	Leu	Thr	Pro	Lys 250	Val	Thr	Cys	Val	Val 255	Val
Asp	Ile	Ser	Lys 260	Asp	Asp	Pro	Glu	Val 265	Gln	Phe	Ser	Trp	Phe 270	Val	Asp
Asp	Val	Glu 275	Val	His	Thr	Ala	Gln 280	Thr	Gln	Pro	Arg	Glu 285	Glu	Gln	Phe
Asn	Ser 290	Thr	Phe	Arg	Ser	Val 295	Ser	Glu	Leu	Pro	Ile 300	Met	His	Gln	Asp

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys
325 330 335

Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys
340 345 350

Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp
355 360 365

Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys
370 375 380

Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr
405 410 415

Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser
420 425 430

Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435

<210> 27
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R12 重鏈(mIgG2)

<400> 27

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

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

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly

	35		40		45														
Ile	Ile	Gly	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys	Gly				
	50					55					60								
Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Ser	Thr	Thr	Val	Glu	Leu	Lys	Ile	Thr				
65					70					75					80				
Ser	Pro	Thr	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala	Arg	Gly	Gly				
				85					90					95					
Tyr	Arg	Thr	Ser	Gly	Met	Asp	Pro	Trp	Gly	Pro	Gly	Thr	Leu	Val	Thr				
			100					105					110						
Val	Ser	Ser	Ala	Lys	Thr	Thr	Ala	Pro	Ser	Val	Tyr	Pro	Leu	Ala	Pro				
			115				120					125							
Val	Cys	Gly	Asp	Thr	Thr	Gly	Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Cys	Leu	Val				
	130					135					140								
Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Leu	Thr	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser				
145					150					155					160				
Leu	Ser	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Asp	Leu				
				165					170					175					
Tyr	Thr	Leu	Ser	Ser	Ser	Val	Thr	Val	Thr	Ser	Ser	Thr	Trp	Pro	Ser				
			180					185					190						
Gln	Ser	Ile	Thr	Cys	Asn	Val	Ala	His	Pro	Ala	Ser	Ser	Thr	Lys	Val				
		195					200					205							
Asp	Lys	Lys	Ile	Glu	Pro	Arg	Gly	Pro	Thr	Ile	Lys	Pro	Cys	Pro	Pro				
	210					215					220								
Cys	Lys	Cys	Pro	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Ile				
225					230				235						240				
Phe	Pro	Pro	Lys	Ile	Lys	Asp	Val	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Ser	Pro	Ile				
				245					250					255					

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln
260 265 270

Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln
275 280 285

Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu
290 295 300

Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro
340 345 350

Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr
355 360 365

Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys
370 375 380

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

Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val
405 410 415

Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn
420 425 430

His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
435 440 445

- <210> 28
- <211> 217
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 313R11/313R12 輕鏈

<400> 28

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Ser
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Glu His Ser Val Gly Asn
85 90 95

Val Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg Thr
100 105 110

Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu
115 120 125

Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn
145 150 155 160

Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His
180 185 190

Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile
195 200 205

Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 29
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14 重鏈(hIgG1)

<400> 29

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

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

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

Gly Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Glu Leu Lys Leu
65 70 75 80

Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
85 90 95

Gly Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

				165					170							175			
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu				
			180					185					190						
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr				
		195					200					205							
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr				
	210					215					220								
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe				
225					230					235					240				
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro				
				245					250					255					
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val				
			260					265					270						
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr				
		275					280					285							
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val				
	290					295					300								
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys				
305					310					315					320				
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser				
				325					330					335					
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro				
			340					345					350						
Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val				
		355					360					365							
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly				
	370					375					380								

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

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

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

<210> 30
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14/313R19/313R20 輕鏈

<400> 30

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

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

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

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

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

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

Ile Tyr Asn Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115

120

125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> AH-1 肽

<400> 31

Ser Pro Ser Tyr Val Tyr His Gln Phe
1 5

<210> 32
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R19/313R20 重鏈可變區

<400> 32

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

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

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

Gly Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
50 55 60

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

Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
85 90 95

Gly Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 33
<211> 465
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R19 重鏈(IgG1)

<220>
<221> 訊號肽
<222> (1)..(19)

<400> 33

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
35 40 45

Ser Ser Ser Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Gly Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn
 65 70 75 80
 Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Ser Ser Asn Gln Val Ser
 85 90 95
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 100 105 110
 Ala Arg Gly Gly Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro Trp Gly Gln Gly
 115 120 125
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 130 135 140
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 145 150 155 160
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 165 170 175
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 180 185 190
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 195 200 205
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 210 215 220
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 225 230 235 240
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 245 250 255
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 260 265 270

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
275 280 285

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
290 295 300

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
305 310 315 320

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
325 330 335

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
340 345 350

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
355 360 365

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
370 375 380

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
385 390 395 400

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
405 410 415

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
420 425 430

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
435 440 445

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
450 455 460

Lys
465

<210> 34
<211> 446

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 313R19 重鏈(IgG1)

<400> 34

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

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

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

Gly Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala Lys
50 55 60

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

Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly
85 90 95

Gly Tyr Arg Thr Ser Gly Met Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

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

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

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

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

<213> 人工序列

<220>

<223> 連接子

<400> 38

Trp Arg Ala Gln Val Thr
1 5

<210> 39

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 連接子

<400> 39

Ala Arg Gly Arg Ala Gln Val Thr
1 5

<210> 40

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> FLAG Tag

<400> 40

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 41

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人類 IgG1 重鏈恆定區

<400> 41

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

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

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

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

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

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

<210> 42
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG2 重鏈恆定區

<400> 42

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

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

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

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

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 43
<211> 377
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG3 重鏈恆定區

<400> 43

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
115 120 125

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
130 135 140

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
145 150 155 160

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
165 170 175

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
180 185 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
195 200 205

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
210 215 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
225 230 235 240

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
245 250 255

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
260 265 270

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
275 280 285

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
290 295 300

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

370

375

<210> 44
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG4 重鏈恆定區

<400> 44

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

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

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

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

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

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

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

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 45
<211> 227
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG1 Fc 區 (13A 變型)

<400> 45

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 46
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人類 IgG1 Fc 區 (13B 變型)

<400> 46

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Glu Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Glu Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 47
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG1 Fc 區 (13A 變型)

<400> 47

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

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

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Lys Leu Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 48
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG1 Fc 區 (13B 變型)

<400> 48

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

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

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

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

<210> 49
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人類 IgG2 Fc 區 (13A 變型)

<400> 49

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
1 5 10 15
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
65 70 75 80
Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110
Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
115 120 125
Pro Pro Ser Arg Glu Lys Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
130 135 140
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Lys
165 170 175
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

210

215

220

<210> 50
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG2 Fc 區 (13B 變型)

<400> 50

Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
130 135 140

Leu Val Glu Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Glu Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215 220

<210> 51
<211> 235
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG2 Fc 區 (13A 變型)

<400> 51

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro
1 5 10 15

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
20 25 30

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
35 40 45

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
50 55 60

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
65 70 75 80

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
85 90 95

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
100 105 110

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
115 120 125

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
130 135 140

Lys Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
145 150 155 160

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
165 170 175

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe
180 185 190

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
195 200 205

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
210 215 220

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 52
<211> 235
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG2 Fc 區 (13A 變型)

<400> 52

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro
1 5 10 15

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
20 25 30

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
35 40 45

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
50 55 60

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
65 70 75 80

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
85 90 95

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
100 105 110

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
115 120 125

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
130 135 140

Lys Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
145 150 155 160

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
165 170 175

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe
180 185 190

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
195 200 205

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
210 215 220

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 53
<211> 235
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG2 Fc 區 (13B 變型)

<400> 53

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro

1	5	10	15
Pro Cys Pro	Ala 20	Pro Pro Val	Ala Gly 25
		Pro Ser Val	Phe Leu 30
Pro Lys	Pro 35	Lys Asp Thr	Leu Met 40
		Ile Ser Arg	Thr Pro 45
Cys Val	Val 50	Val Asp Val	Ser His 55
		Glu Asp Pro	Glu Val 60
Trp Tyr	Val 65	Asp Gly Val	Glu Val 70
		His Asn Ala	Lys Thr 75
		Lys Thr Lys	Pro Arg 80
Glu Glu	Gln Phe 85	Asn Ser Thr	Phe Arg 90
		Val Ser Val	Leu Thr 95
Val His	Gln 100	Asp Trp Leu	Asn Gly 105
		Glu Tyr Lys	Cys Lys 110
Val Ser			
Asn Lys	Gly 115	Leu Pro Ala	Pro Ile 120
		Glu Lys Thr	Ile Ser 125
		Lys Thr Lys	
Gly Gln	Pro 130	Arg Glu Pro	Gln Val 135
		Tyr Thr Leu	Pro Pro 140
Glu Met	Thr 145	Lys Asn Gln	Val Ser 150
		Leu Thr Cys	Leu Val 155
		Glu Gly Phe	
Tyr Pro	Ser 165	Asp Ile Ala	Val Glu 170
		Trp Glu Ser	Asn Gly 175
		Gln Pro Glu	
Asn Asn	Tyr 180	Lys Thr Thr	Pro Pro 185
		Leu Asp Ser	Asp Gly 190
		Ser Phe	
Phe Leu	Tyr 195	Ser Glu Leu	Thr Val 200
		Asp Lys Ser	Arg Trp 205
		Gln Gln Gly	
Asn Val	Phe 210	Ser Cys Ser	Val Met 215
		His Glu Ala	Leu His 220
		Asn His Tyr	

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 54
<211> 235
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 IgG2 Fc 區 (13B 變型)

<400> 54

Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro
1 5 10 15

Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
20 25 30

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
35 40 45

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
50 55 60

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
65 70 75 80

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
85 90 95

Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
100 105 110

Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
115 120 125

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
130 135 140

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Glu Gly Phe
145 150 155 160

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

165

170

175

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
180 185 190

Phe Leu Tyr Ser Glu Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
195 200 205

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
210 215 220

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230 235

<210> 55
<211> 462
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R20 重鏈(IgG4)

<220>
<221> 訊號肽
<222> (1)..(19)

<400> 55

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu
35 40 45

Ser Ser Ser Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ile Ile Gly Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Tyr Ala Asn
65 70 75 80

Trp Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Ser Ser Asn Gln Val Ser

				85					90					95			
Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			100					105					110				
Ala	Arg	Gly	Gly	Tyr	Arg	Thr	Ser	Gly	Met	Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly		
		115					120					125					
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
	130					135					140						
Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu		
	145				150					155					160		
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp		
				165					170					175			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu		
			180					185					190				
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser		
		195					200					205					
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro		
	210					215					220						
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro		
	225				230					235					240		
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
				245					250					255			
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro		
			260					265					270				
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val		
		275					280					285					
Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr		
	290					295					300						

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
305 310 315 320

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
325 330 335

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
340 345 350

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
355 360 365

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
370 375 380

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
385 390 395 400

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
405 410 415

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
420 425 430

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 56
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R20 重鏈(IgG4)

<400> 56

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Ser

	20		25		30														
Tyr	Met	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile				
	35						40					45							
Gly	Ile	Ile	Gly	Ser	Asn	Gly	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp	Ala	Lys				
	50					55					60								
Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Lys	Ser	Ser	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Lys	Leu				
	65				70					75					80				
Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Gly				
				85					90					95					
Gly	Tyr	Arg	Thr	Ser	Gly	Met	Asp	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val				
			100					105					110						
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala				
		115					120					125							
Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu				
	130					135					140								
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly				
	145				150					155					160				
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser				
				165					170					175					
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu				
			180					185					190						
Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr				
		195					200					205							
Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro				
	210					215					220								
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro				
	225				230					235					240				

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 245 250 255
 Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
 260 265 270
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 275 280 285
 Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 290 300
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 305 310 315 320
 Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 325 330 335
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
 340 345 350
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 355 360 365
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 370 375 380
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 385 390 395 400
 Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
 405 410 415
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 420 425 430
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440
 <210> 57
 <211> 7
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 313M26/313M32 重鏈CDR1

<400> 57

Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn
1 5

<210> 58

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 313M26/313M32 重鏈CDR2

<400> 58

Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Arg Ser
1 5 10 15

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 313M26/313M32 重鏈CDR3

<400> 59

Ala Arg Arg Gln Val Gly Leu Gly Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 313M26/313M32 Light chain CDR1

<400> 60

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala Val Ala
1 5 10

<210> 61

<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M26/313M32 輕鏈 CDR2

<400> 61

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M26/313M32 輕鏈 CDR3

<400> 62

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro
1 5

<210> 63
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M26 重鏈可變區

<400> 63

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

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

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

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

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

- <210> 64
- <211> 99
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 313M26 輕鏈可變區
- <400> 64

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly

- <210> 65
- <211> 354
- <212> DNA
- <213> 人工序列

<220>
<223> 313M26 重鏈可變區

<400> 65
gatgtgcagc ttcaggagtc aggacctggc ctggtgaaac ctctcagtc tctgtccctc 60
acctgcactg tcaactggcta ctcaatcacc agtgattatg cctgggaactg ggtccggcag 120
tttccaggaa acaaactgga gtggatgggc tacataagct acagtggtag cactagctac 180
aaccatctc tcagaagtcg aatctctatc actcgagaca catccaagaa ccagttcttc 240
ctgcagttga attctgtgac tactgaggac acagccacat attactgtgc aaggagacag 300
gtcgggctgg ggtttgctta ctggggccaa gggactctgg tcaactgtcag ctca 354

<210> 66
<211> 297
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M26 輕鏈可變區

<400> 66
gacattgtga tgaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagttggaga cagggtcagc 60
atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggatatca acagaaacca 120
ggacaatctc ctaaactact gatttactcg gcatcctacc ggtacactgg agtccctgat 180
cgcttcactg gcagtggatc tgggacggat ttcactttca ccatcagcag tgtgcaggct 240
gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcaa cattatagta ctccgtggac gttcgggt 297

<210> 67
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M32 重鏈可變區

<400> 67
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

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

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 68
<211> 99
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M32 輕鏈可變區

<400> 68

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly

<210> 69
<211> 467
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M32 重鏈(IgG1)

<220>
<221> 訊號肽
<222> (1)..(19)

<400> 69

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

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

Thr Ser Asp Tyr Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
50 55 60

Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn
65 70 75 80

Pro Ser Leu Arg Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn
85 90 95

Gln Phe Phe Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gln Val Gly Leu Gly Phe Ala Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 70
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M32 重鏈(IgG1)

<400> 70

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

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

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Arg Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Arg Gln Val Gly Leu Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

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

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

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

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

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

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

<210> 71
<211> 234
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M32 輕鏈

<220>

<221> 訊號肽

<222> (1)..(20)

<400> 71

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp
35 40 45

Val Ser Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr
100 105 110

Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Asn Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 72
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M32 輕鏈

<400> 72

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Asn Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 73
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M32 重鏈可變區

<400> 73
caggtcacgc tgcaggagtc tggcccagga ctggtgaagc cttctgagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctctggtta ctccatcacc tccgattatg cctggaactg gattcggcag 120
ccccagggga aggggctgga gtggattggg tacataagct actctggtag cactagctac 180
aaccatcttc tccggtcacg ggtcacaata tcacgggaca catccaagaa ccagttcttc 240
ctgaagctgt cctctgtgac cgccgctgac accgccgtgt attactgtgc aaggagacag 300
gtcgggctgg ggtttgctta ctggggccaa ggaaccctgg tcaccgtcag ctca 354

<210> 74
<211> 297
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M32 輕鏈可變區

<400> 74
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60
atcacttgca aggcttctca ggatgtgtct actgctgttg cctggatatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctactct gcatectate ggtacactgg ggtcccatca	180
aggttctccg gatctggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagcct	240
gaagatattg caacatatta ctgtcagcaa cattattcta ctccctggac attcggc	297

<210> 75
 <211> 1404
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 313M32 重鏈 (IgG1)

<400> 75	
atggactgga cctggaggat actctttctc gtggctgcag ccacaggagc ccactcccag	60
gtccagctgc aggagctctg gccaggactg gtgaagcctt ctgagaccct gtccctcacc	120
tgcgctgtct ctggttactc catcacctcc gattatgcct ggaactggat tcggcagccc	180
ccagggaagg ggctggagtg gattgggtac ataagctact ctggtagcac tagctacaac	240
ccatctctcc ggtcacgggt cacaatatca cgggacacat ccaagaacca gtctctcctg	300
aagctgtcct ctgtgaccgc cgctgacacc gccgtgtatt actgtgcaag gagacaggtc	360
gggctggggt ttgcttactg gggccaagga accctgggtc ccgtcagctc agccagcaca	420
aagggccctt ccgtgttccc tctggccctt tcttccaagt ccacctccgg cggcacccgc	480
gctctgggct gcctggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgaccgtgtc ctggaactct	540
ggcgccctga cctctggcgt gcacaccttc ccagccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac	600
tccctgtcct ccgtggtgac cgtgccttcc tcttccctgg gcacccagac ctacatctgc	660
aacgtgaacc acaagccttc caacaccaag gtggacaagc ggggtggagcc taagtcctgc	720
gacaagacc acacctgccc tccctgccct gcccctgagc tgctgggcgg accttccgtg	780
ttcctgttcc ctcttaagcc taaggacacc ctgatgatct cccggacccc tgaggtgacc	840
tgcgtgggtg tggacgtgtc ccacgaggat cctgagggtga agttcaattg gtacgtggac	900
ggcgtggagg tgcacaacgc taagaccaag ccaagggagg agcagtacaa ctccacctac	960
cgggtgggtgt ctgtgctgac cgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agaatacaag	1020
tgcaaggtct ccaacaaggc cctgcccgtt cccatcgaga aaacctctc caaggccaag	1080
ggccagcctc gcgagcctca ggtgtacacc ctgccacca gccgggagga gatgaccaag	1140

aaccagggtgt ccctgacctg tctgggtgaag ggcttctacc cttccgatat cgccgtggag	1200
tgggagtcta acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccctcctgt gctggactcc	1260
gacggctcct tcttcctgta ctccaagctg accgtggaca agtcccgggtg gcagcagggc	1320
aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagagc	1380
ctgtctctgt ctccctggcaa gtga	1404

<210> 76
 <211> 705
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 313M32 輕鏈

<400> 76	
atgggtgctcc agacccagggt cttcatttcc ctgtctgtct ggatcagcgg agcctacggg	60
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc	120
atcacttgca aggcttctca ggatgtgtct actgctgttg cctggatatca gcagaaacca	180
gggaaagccc ctaagctcct gatctactct gcatcctatc ggtacactgg ggtcccatca	240
aggttctccg gatctggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagcct	300
gaagatatig caacatatta ctgtcagcaa cattattcta ctcccttgac attcggccaa	360
gggaccaagg tggaatatcaa acgtacgggtg gctgcacat ctgtcttcat cttccctcca	420
tctgatgagc agctcaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat	480
cccagagagg ccaaagtcca gtggaagggtg gataacgccc tccaatccgg caactcccag	540
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcaa caccctgaca	600
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctatgcct gcgaagtcac ccatcagggc	660
ctgtcttccc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gctaa	705

<210> 77
 <211> 245
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 食蟹獼猴

<400> 77

Met Arg Trp Cys Leu Phe Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn
20 25 30

Ile Ser Ala Lys Lys Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
35 40 45

Ser Thr Met Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln His Asp His
50 55 60

Ser Leu Leu Ala Ile Arg Asn Ala Glu Leu Gly Trp His Ile Tyr Pro
65 70 75 80

Ala Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu
85 90 95

Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr Tyr His
100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Arg Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu
115 120 125

Glu Ser Ser Val Ala Glu His Ser Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu
130 135 140

Gly Ala Met Ala Met Met Leu Val Val Ile Cys Ile Ala Val Ile Val
145 150 155 160

Val Val Val Leu Ala Arg Lys Lys Lys Ser Leu Arg Ile His Ser Val
165 170 175

Glu Ser Gly Leu Gln Arg Lys Ser Thr Gly Gln Glu Glu Gln Ile Pro
180 185 190

Ser Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro
195 200 205

Ala Gly Leu Cys Gly Glu Gln Gln Gly Asp Asp Cys Ala Glu Leu His
210 215 220

Asp Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Ser Cys Ser Phe
225 230 235 240

Phe Thr Glu Thr Gly
245

<210> 78
<211> 245
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 恆河猴

<400> 78

Met Arg Trp Cys Leu Phe Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala
1 5 10 15

Pro Leu Ala Ser Gly Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn
20 25 30

Ile Ser Ala Lys Lys Gly Gly Ser Val Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
35 40 45

Ser Thr Met Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln His Asp His
50 55 60

Ser Leu Leu Ala Ile Arg Asn Ala Glu Leu Gly Trp His Ile Tyr Pro
65 70 75 80

Ala Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu
85 90 95

Gln Ser Leu Thr Met Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Thr Tyr His
100 105 110

Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Arg Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu
115 120 125

Glu Ser Ser Val Ala Glu His Ser Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu
130 135 140

Gly Ala Met Ala Met Met Leu Val Val Ile Cys Ile Ala Val Ile Val
145 150 155 160

Val Val Val Leu Ala Arg Lys Lys Lys Ser Leu Arg Ile His Ser Val
165 170 175

Glu Ser Gly Leu Gln Arg Lys Ser Thr Gly Gln Glu Glu Gln Ile Pro
180 185 190

Ser Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro
195 200 205

Ala Gly Leu Cys Gly Glu Gln Gln Gly Asp Asp Cys Ala Glu Leu His
210 215 220

Asp Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Ser Cys Ser Phe
225 230 235 240

Phe Thr Glu Thr Gly
245

<210> 79
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 TIGIT 胺基酸 55-70

<400> 79

Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys Asn
1 5 10 15

<210> 80
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 TIGIT 胺基酸 105-122

<400> 80

Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly
1 5 10 15

Arg Ile

<210> 81
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313R14/313R19 輕鏈 CDR1

<400> 81

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Asp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 82
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 313M33 重鏈 (IgG4) Ver2

<400> 82

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

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

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

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

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

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

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

325330335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340345350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355360365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370375380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385390395400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405410415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420425430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435440445

申請專利範圍

1. 一種特異性結合人類 TIGIT 的細胞外結構域之單離抗體，其包含：

- (a) 包含 TSDYAWN (SEQ ID NO：57)之重鏈 CDR1、包含 YISYSGSTSYNPSLRS (SEQ ID NO：58)之重鏈 CDR2 及包含 ARRQVGLGFAY (SEQ ID NO：59)之重鏈 CDR3；及
- (b) 包含 KASQDVSTAVA (SEQ ID NO：60)之輕鏈 CDR1、包含 SASYRYT (SEQ ID NO：61)之輕鏈 CDR2 及包含 QQHYSTP (SEQ ID NO：62)之輕鏈 CDR3。

2. 根據申請專利範圍第 1 項之抗體，其包含：

- (a) 與 SEQ ID NO：67 具有至少 90%之序列一致性的重鏈可變區及與 SEQ ID NO：68 具有至少 90%之序列一致性的輕鏈可變區；或
- (b) 與 SEQ ID NO：63 具有至少 90%之序列一致性的重鏈可變區及與 SEQ ID NO：64 具有至少 90%之序列一致性的輕鏈可變區。

3. 根據申請專利範圍第 2 項之抗體，其包含重鏈可變區和輕鏈可變區，該重鏈可變區包含 SEQ ID NO：67 且該輕鏈可變區包含 SEQ ID NO：68。

4. 一種特異性結合人類 TIGIT 之單離抗體，其中該抗體結合抗原決定區，該抗原決定區包含：

- (a) 在 SEQ ID NO：79 內的胺基酸；

- (b) 在 SEQ ID NO : 80 內的胺基酸 ;
- (c) 在 SEQ ID NO : 79 和 SEQ ID NO : 80 內的胺基酸 ;
- (d) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q62 和 I109 ;
- (e) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q62 和 T119 ;
- (f) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q64 和 T109 ;
- (g) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q64 和 T119 ;
- (h) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q62、Q64 和 I109 ;
- (i) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q62、Q64 和 T119 ;
- (j) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q62、I109 和 T119 ;
- (k) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q64、I109 和 T119 ;
- (l) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 Q62、Q64、I109 和 T119 ; 或
- (m) SEQ ID NO : 4 的胺基酸 N58、E60、Q62、Q64、L65、F107、I109、H111、T117、T119 和 G120 中至少一者。

5. 根據申請專利範圍第 4 項之抗體，其中該抗原決定區為構形抗原決定區。

6. 根據申請專利範圍第 1 至 5 項中任一項之抗體，其為單克隆抗體、人源化抗體、人類抗體、嵌合抗體、雙特異性抗體、包含抗原結合部位之抗體片段、IgG1 抗體、IgG2 抗體或 IgG4 抗體。

7. 根據申請專利範圍第 1 項之抗體，其包含：

- (a) SEQ ID NO : 70 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID

NO : 72 之輕鏈胺基酸序列 ; 或

(b) SEQ ID NO : 82 之重鏈胺基酸序列和 SEQ ID NO : 72 之輕鏈胺基酸序列。

8. 一種抗體，其包含由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122346 之質體編碼的重鏈可變區及由寄存於 ATCC 編號為 PTA-122347 之質體編碼的輕鏈可變區。

9. 一種雙特異性劑，其包含：

a) 特異性結合 TIGIT 之第一臂；及

b) 第二臂(second arm)，

其中該第一臂包含根據申請專利範圍第 1 至 8 項中任一項之抗體。

10. 根據申請專利範圍第 7 項之雙特異性劑，其中該第二臂特異性結合 PD-1、PD-L1、CTLA4、TIM-3、LAG-3、OX-40 或 GITR。

11. 一種單離抗體，其

(a) 與根據申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之抗體或雙特異性劑競爭與 TIGIT 特異性結合；

(b) 與根據申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之抗體或雙特異性劑結合 TIGIT 之相同的抗原決定區；或

(c) 結合 TIGIT 的抗原決定區，該抗原決定區與根據申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之抗體或雙特異性劑結合之 TIGIT 的抗原決定區重疊。

12. 根據申請專利範圍第 1 至 10 項中任一項之抗體

或雙特異性劑，其：

- (a) 抑制 TIGIT 與脊髓灰白質病毒受體(PVR)結合；
- (b) 抑制或阻斷 TIGIT 與 PVR 之間的交互作用；
- (c) 抑制 TIGIT 傳訊；
- (d) 為經 TIGIT 媒介之傳訊的拮抗劑；
- (e) 抑制 TIGIT 活化；
- (f) 抑制 TIGIT 之磷酸化；及/或
- (g) 降低 TIGIT 之細胞表面表現。

13. 根據申請專利範圍第 1 至 12 項中任一項之抗體
或雙特異性劑，其：

- (a) 誘發及/或增強免疫反應；
- (b) 增加細胞媒介之免疫力；
- (c) 增加 T 細胞活性；
- (d) 增加溶胞性 T 細胞(CTL)活性；
- (e) 增加自然殺手(NK)細胞活性；
- (f) 增加 IL-2 生產及/或 IL-2 生產細胞的數目；
- (g) 增加 IFN- γ 生產及/或 IFN- γ 生產細胞的數目；
- (h) 增強 Th1 型免疫反應；
- (i) 降低 IL-4 生產及/或 IL-4 生產細胞的數目；
- (j) 降低 IL-10 及/或 IL-10 生產細胞的數目；
- (k) 降低 Th2 型免疫反應；
- (l) 抑制及/或降低調節性 T 細胞(Treg)之抑制活性；

及/或

- (j) 抑制及/或降低骨髓衍生性抑制細胞(MDSC)之抑

制活性。

14. 一種細胞，其包含或生產根據申請專利範圍第 1 至 13 項中任一項之抗體或雙特異性劑。

15. 一種醫藥組成物，其包含根據申請專利範圍第 1 至 13 項中任一項之抗體或雙特異性劑及醫藥上可接受的載劑。

16. 一種單離多核苷酸分子，其包含編碼根據申請專利範圍第 1 至 13 項中任一項之抗體或雙特異性劑的多核苷酸。

17. 一種根據申請專利範圍第 1 至 13 項中任一項之抗體或雙特異性劑於誘發、活化、促進、增強、提高或延長個體的免疫反應之用途。

18. 根據申請專利範圍第 17 項之用途，其中該免疫反應係對抗腫瘤或癌症。

19. 一種根據申請專利範圍第 1 至 13 項中任一項之抗體或雙特異性劑於抑制腫瘤生長之用途。

20. 根據申請專利範圍第 19 項之用途，其中該腫瘤或腫瘤細胞係選自由下列所組成之群組：結腸直腸腫瘤、卵巢腫瘤、胰臟腫瘤、肺腫瘤、肝腫瘤、乳房腫瘤、腎臟腫瘤、前列腺腫瘤、胃腸道腫瘤、黑色素瘤、子宮頸腫瘤、膀胱腫瘤、神經膠質母細胞瘤和頭與頸腫瘤。

21. 一種根據申請專利範圍第 1 至 13 項中任一項之抗體或雙特異性劑於治療癌症之用途。

22. 根據申請專利範圍第 19 項之用途，其中該癌症

係選自由下列所組成之群組：結腸直腸癌、卵巢癌、胰臟癌、肺癌、肝癌、乳癌、腎臟癌、前列腺癌、胃腸道癌、黑色素瘤、子宮頸癌、膀胱癌、神經膠質母細胞瘤和頭與頸癌。

23. 根據申請專利範圍第 17 至 22 項中任一項之用途，其進一步包含至少一種額外治療劑。

24. 根據申請專利範圍第 23 項之用途，其中該額外治療劑為化療劑、抗體或免疫治療劑。

25. 根據申請專利範圍第 23 項之用途，其中該額外治療劑為選自由下列所組成之群組的免疫治療劑：GM-CSF、M-CSF、G-CSF、IL-2、IL-3、IL-12、IL-15、B7-1 (CD80)、B7-2 (CD86)、4-1BB 配體、GITRL、OX-40 配體、抗-PD-1 抗體、抗-PD-L1 抗體、抗-CTLA4 抗體、抗-LAG-3 抗體、抗-CD3 抗體、抗-GITR 抗體、抗-OX-40 抗體和抗-TIM-3 抗體。

26. 一種質體，其寄存於 ATCC 且分配之指定編號為 PTA-122346 或分配之指定編號為 PTA-122347。

圖 1

圖式

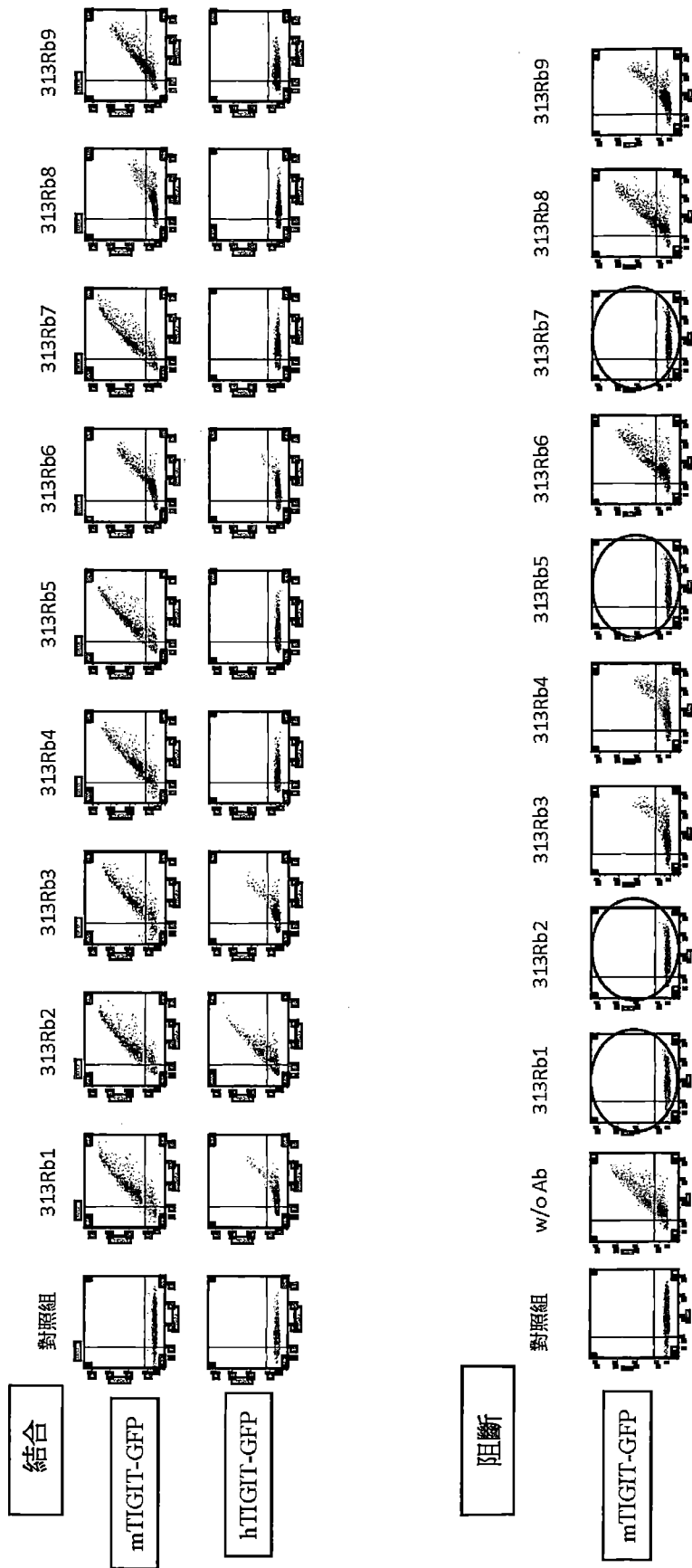


圖 5A

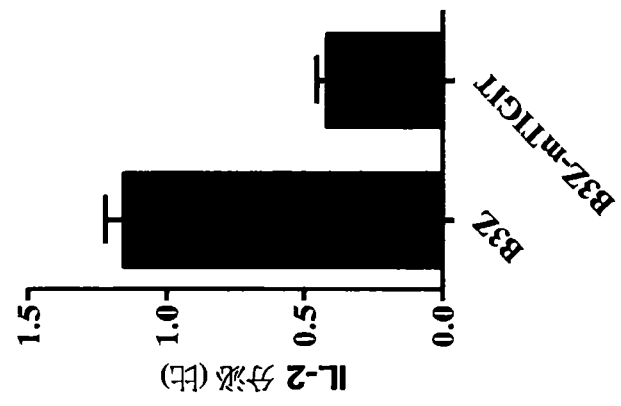


圖 5B

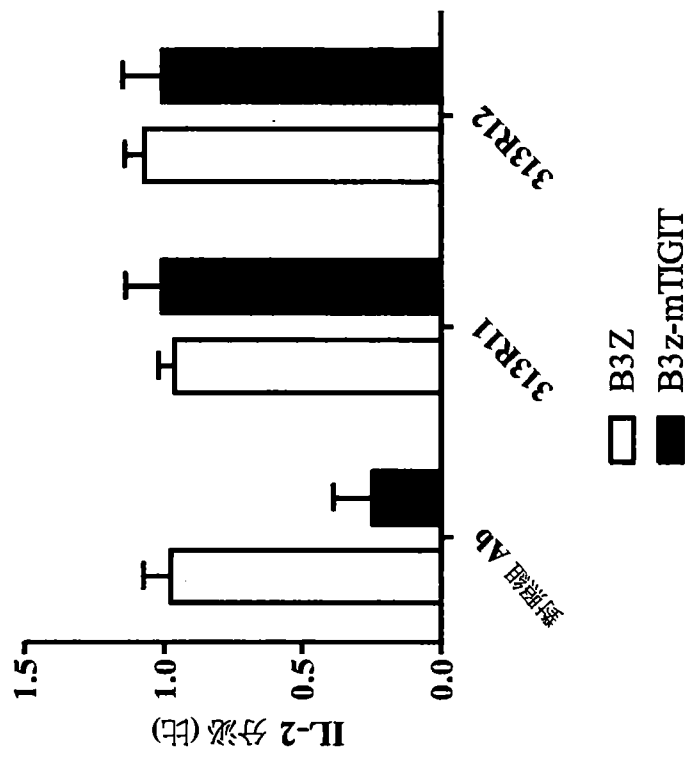


圖 6A

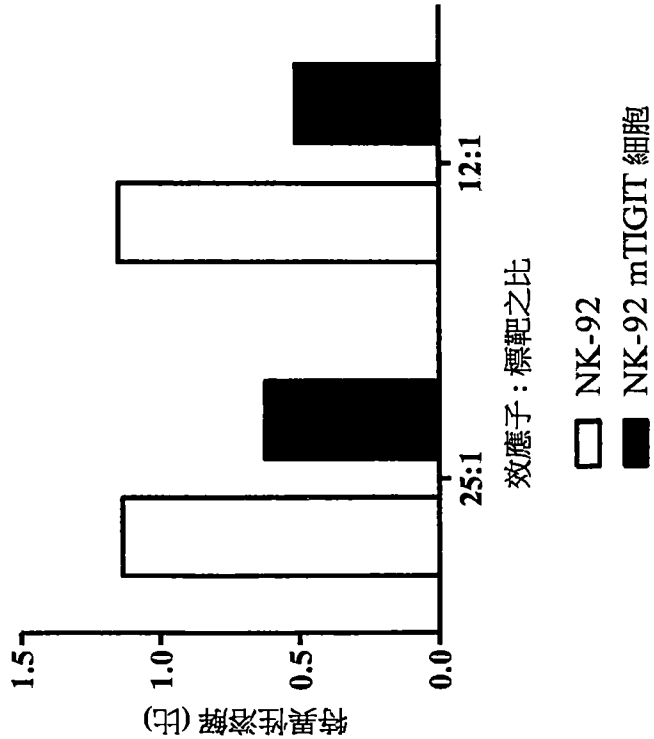


圖 6B

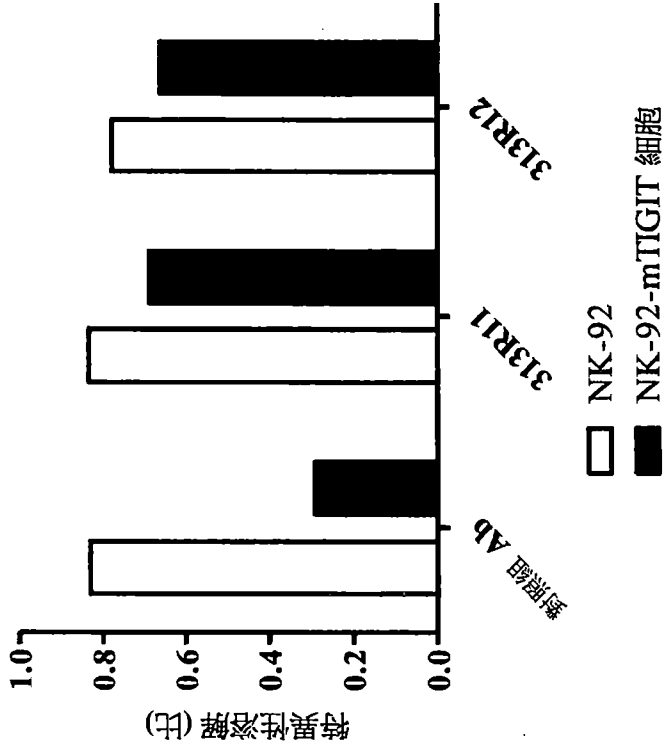


圖 7A

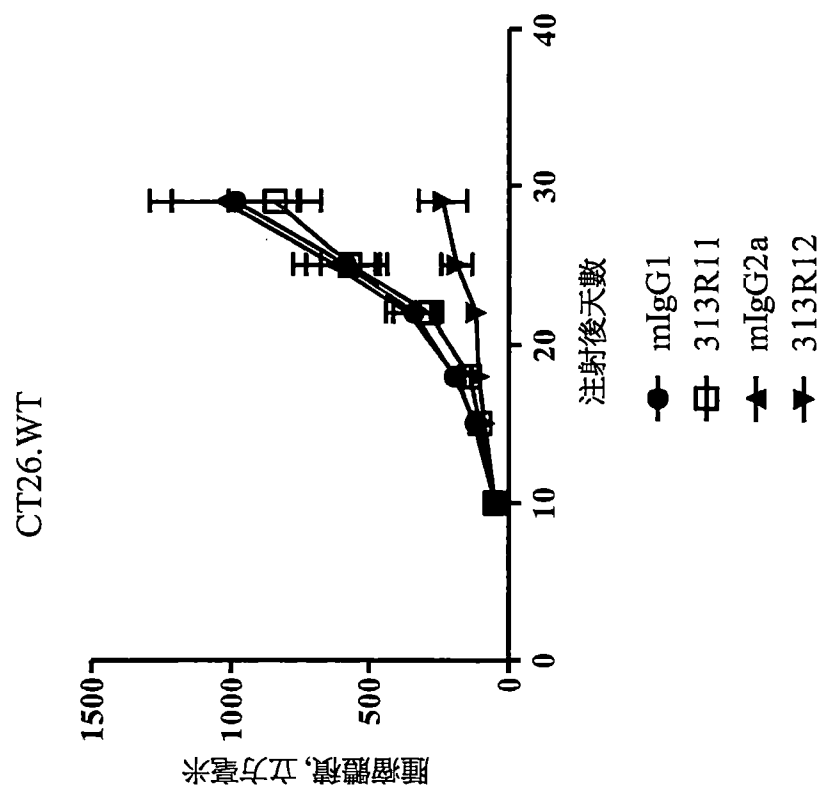


圖 7B

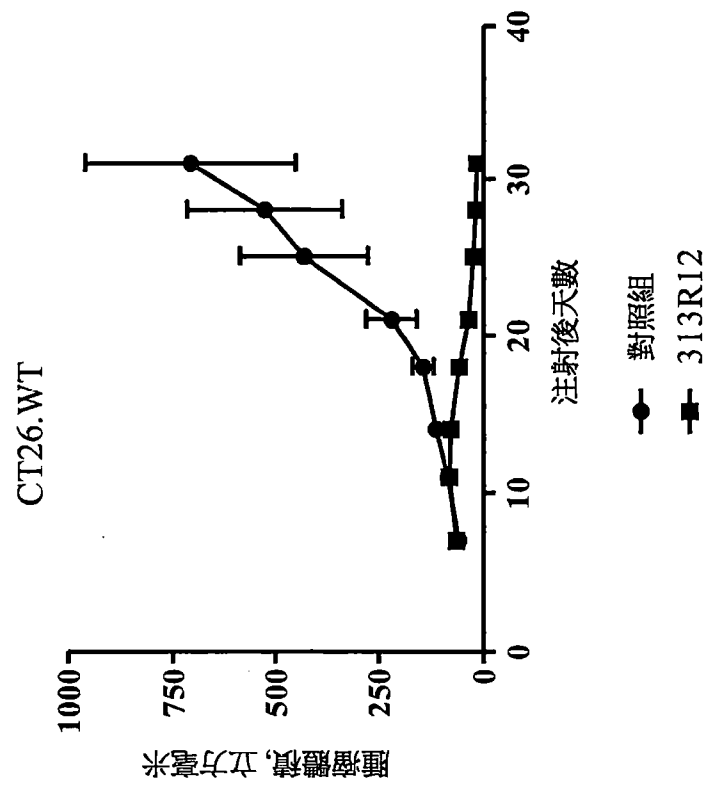


圖 8

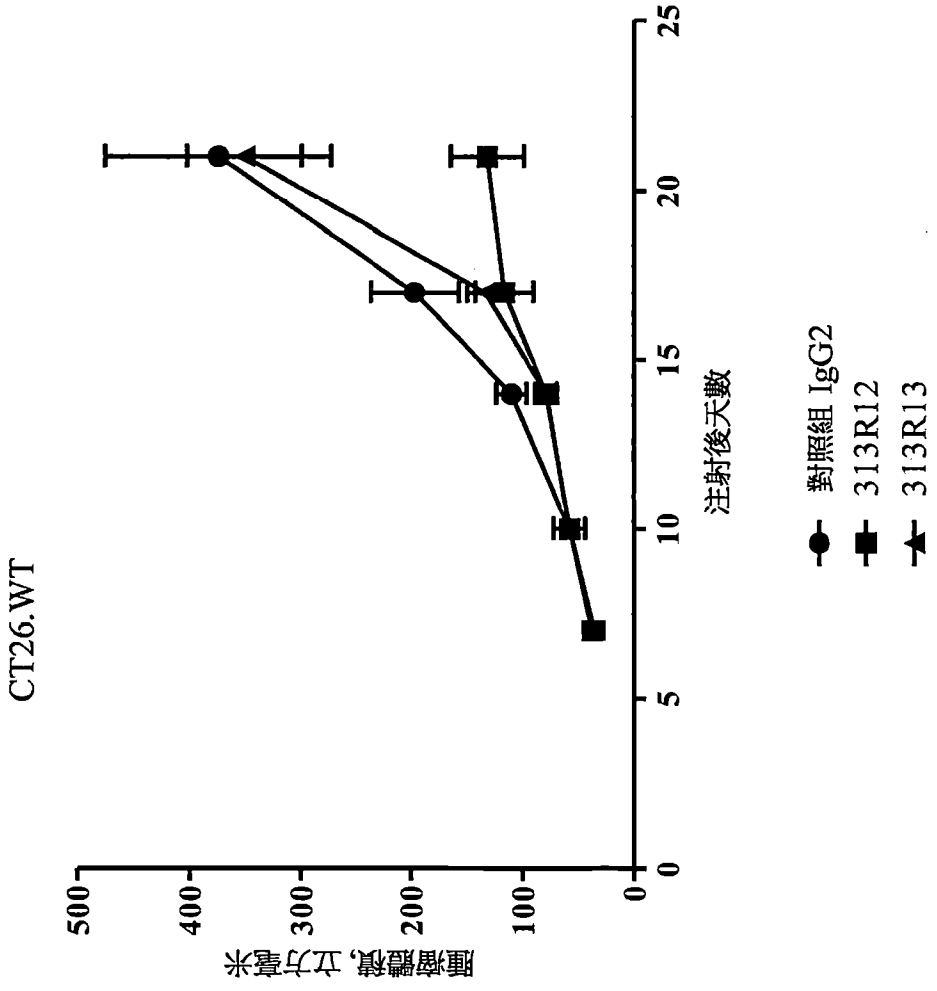


圖 9A

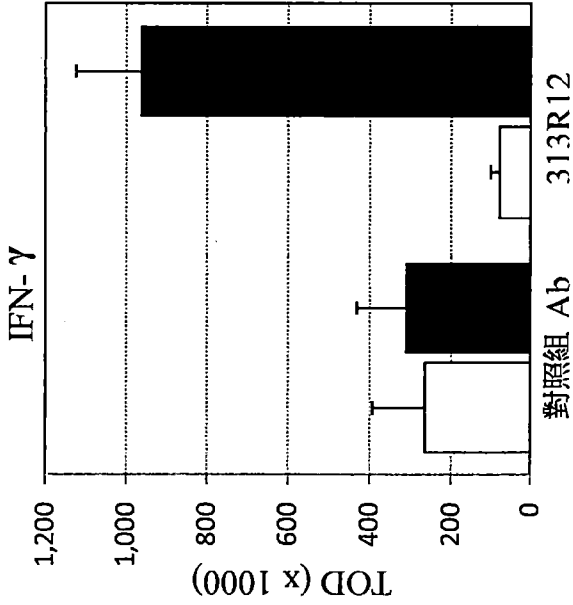


圖 9B

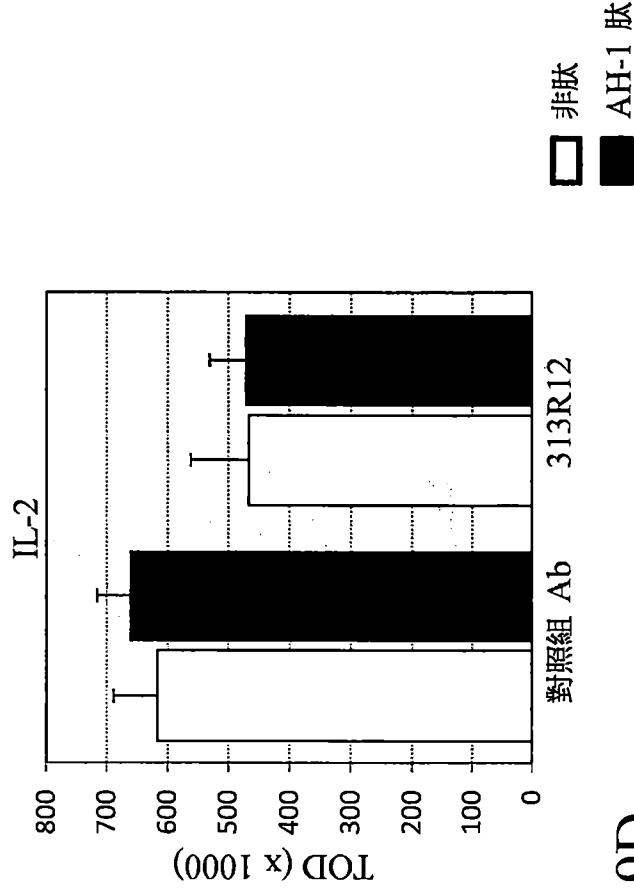


圖 9C

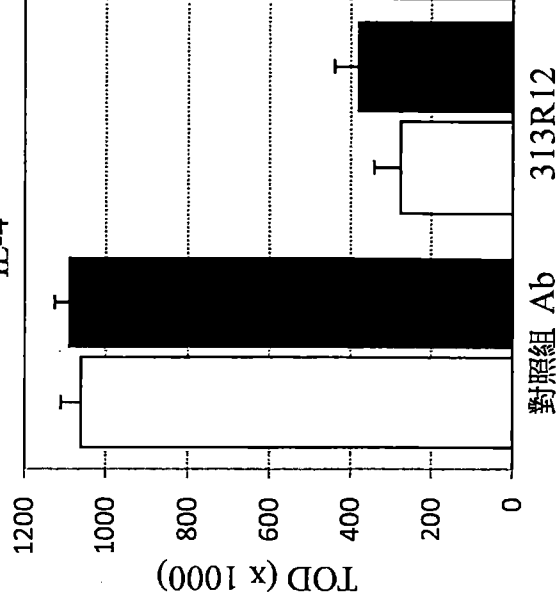


圖 9D

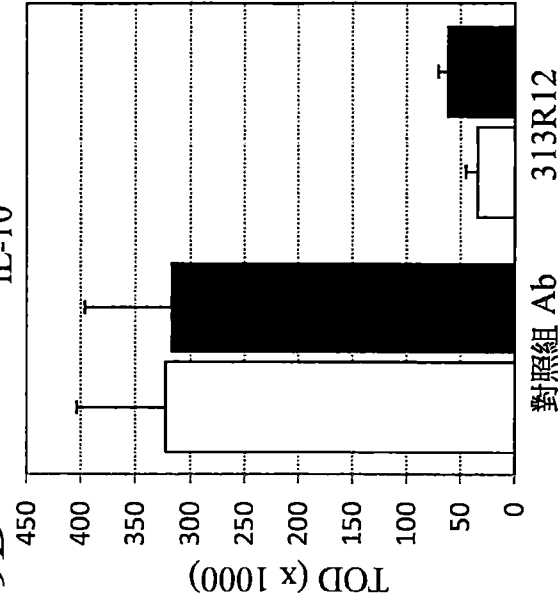


圖 10

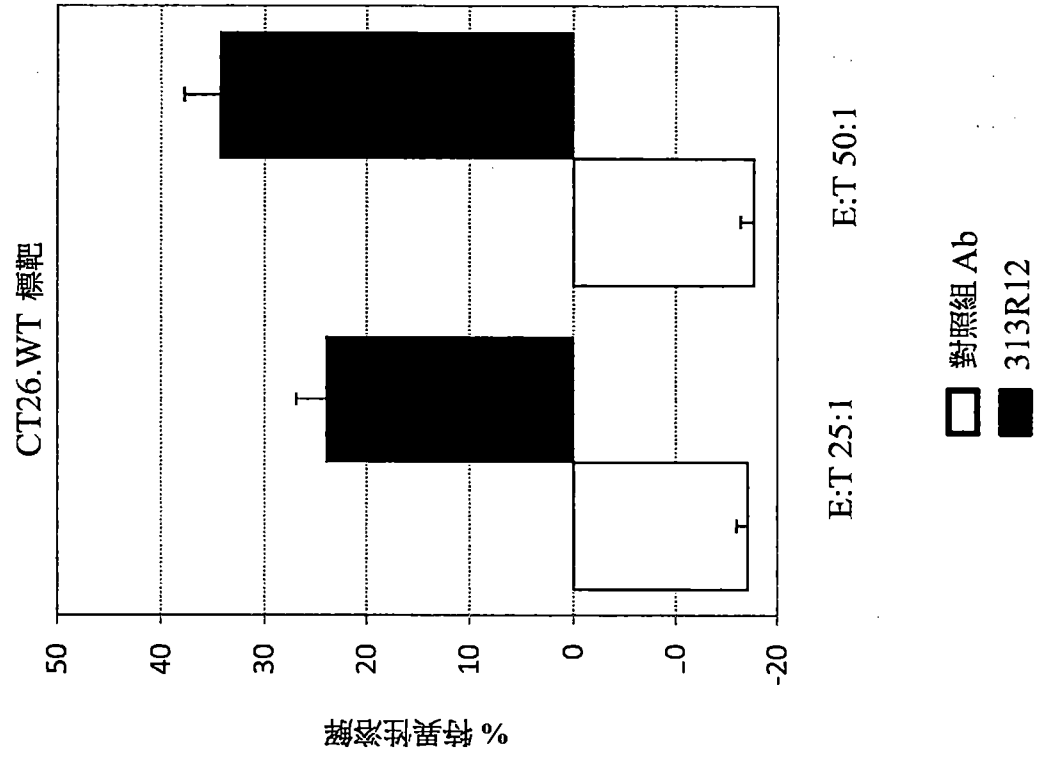


圖 15

腎癌細胞

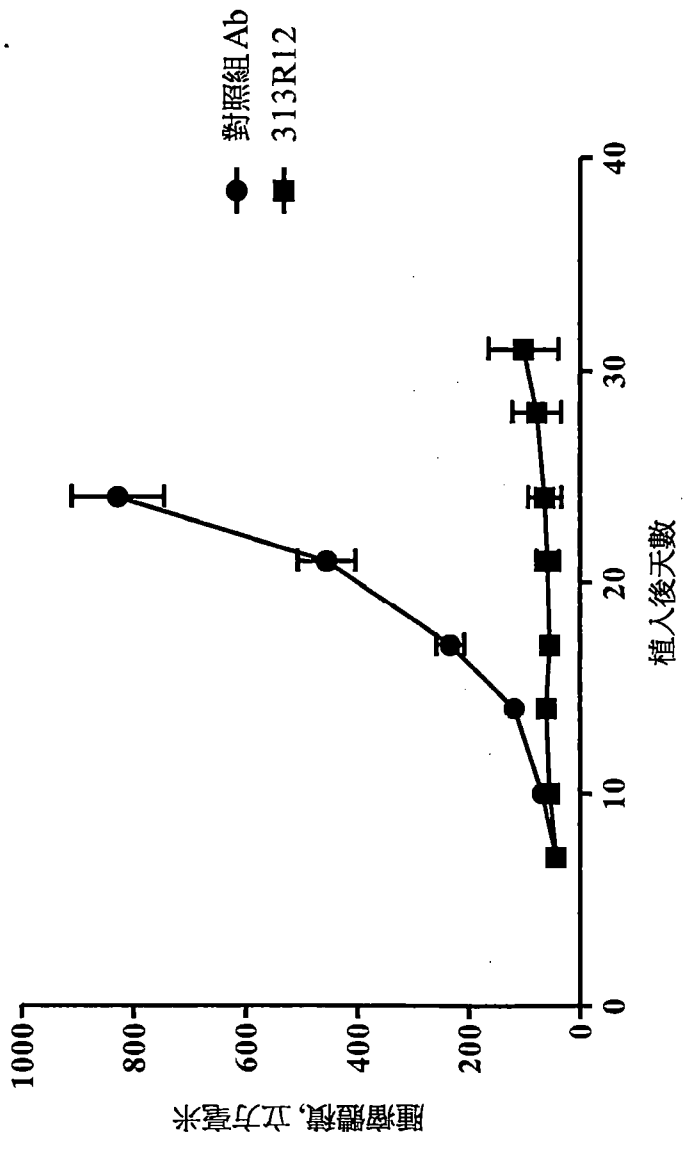


圖 16

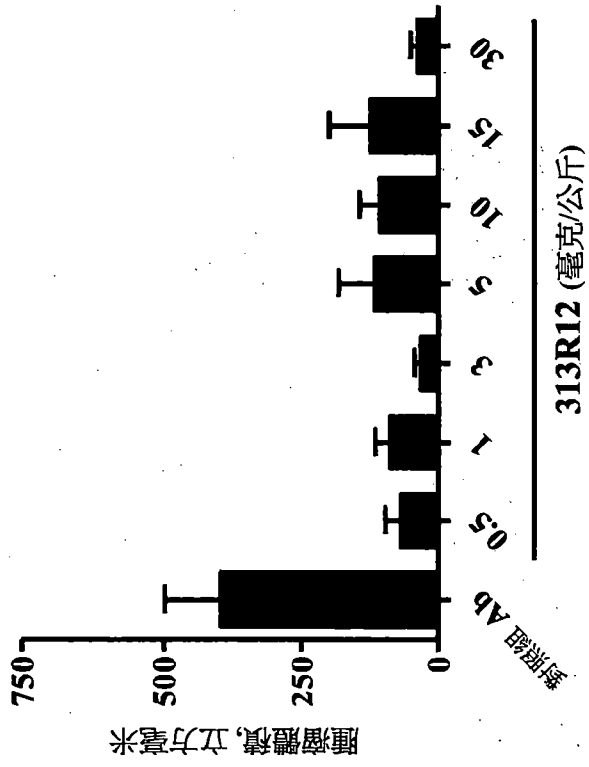


圖 17A

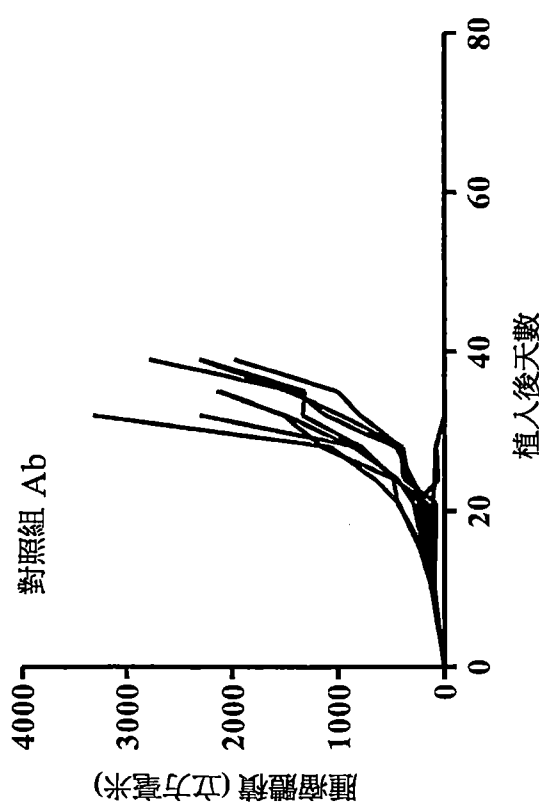
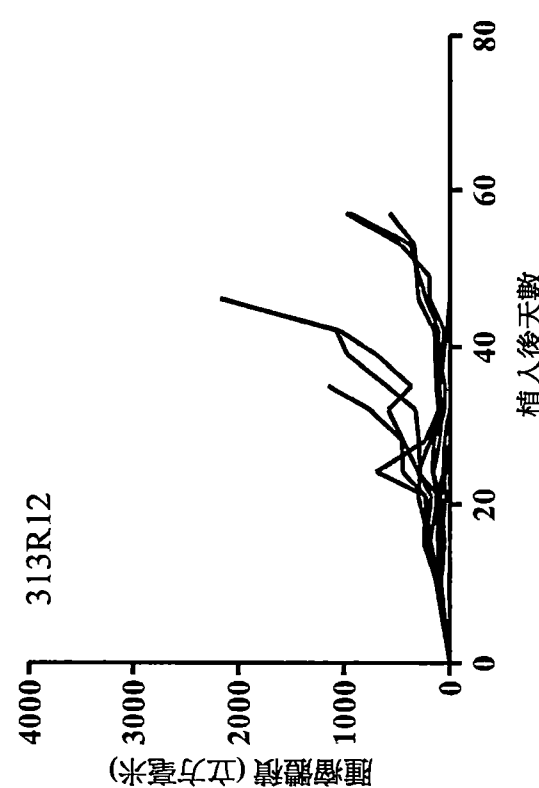


圖 17B



CT26.WT 細胞

圖 17C

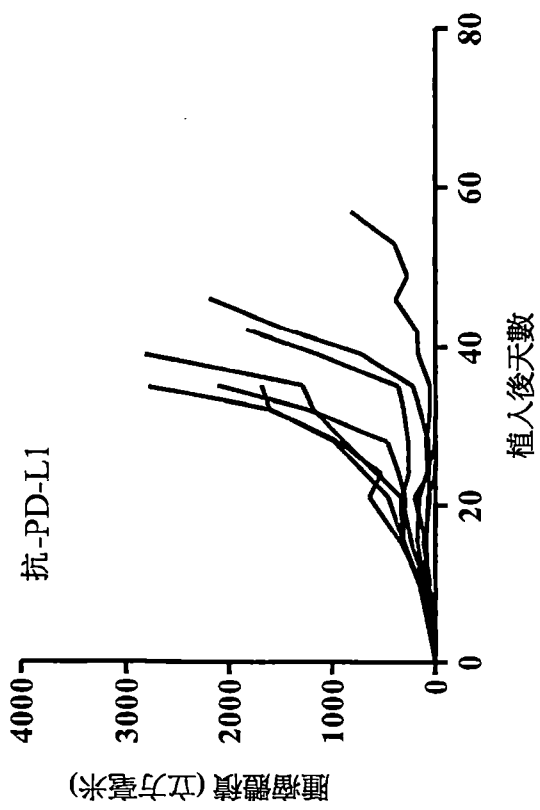


圖 17D

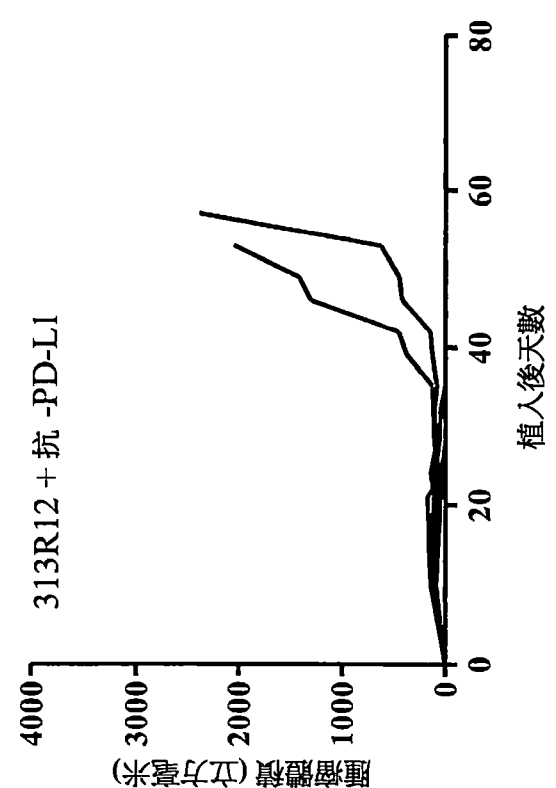
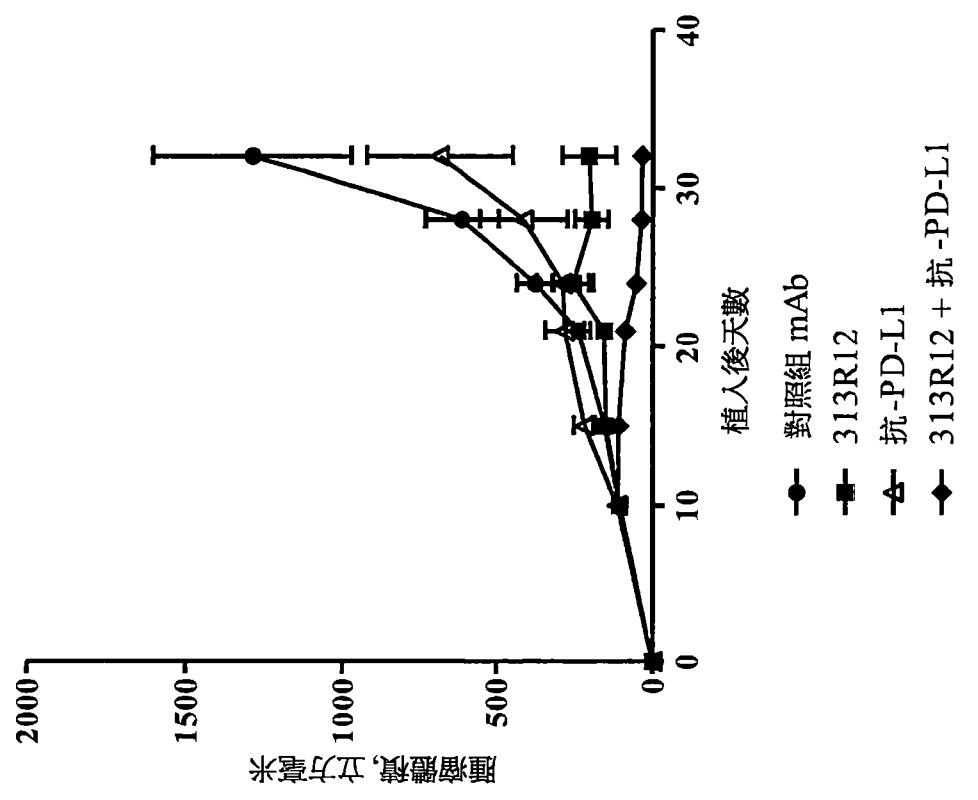


圖 17E



CT26.WT 細胞

圖 17F

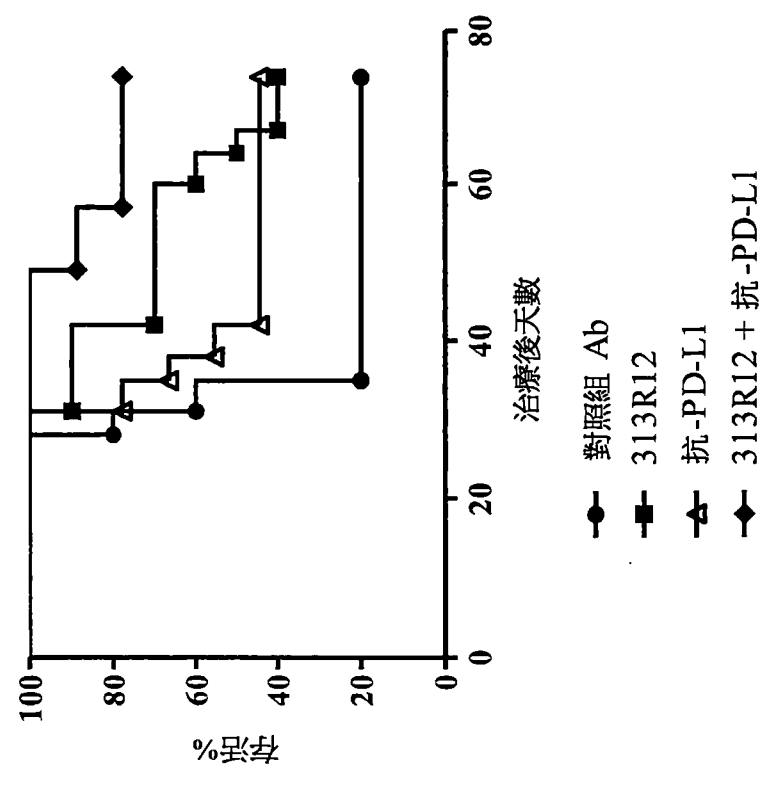


圖 18E

CT26.WT Cells

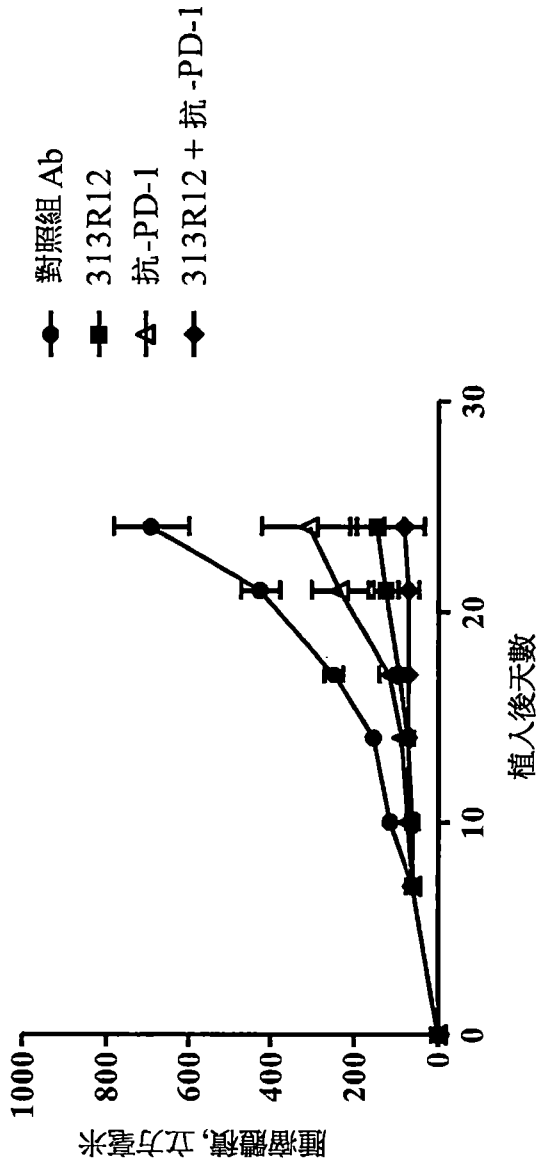


圖 19B

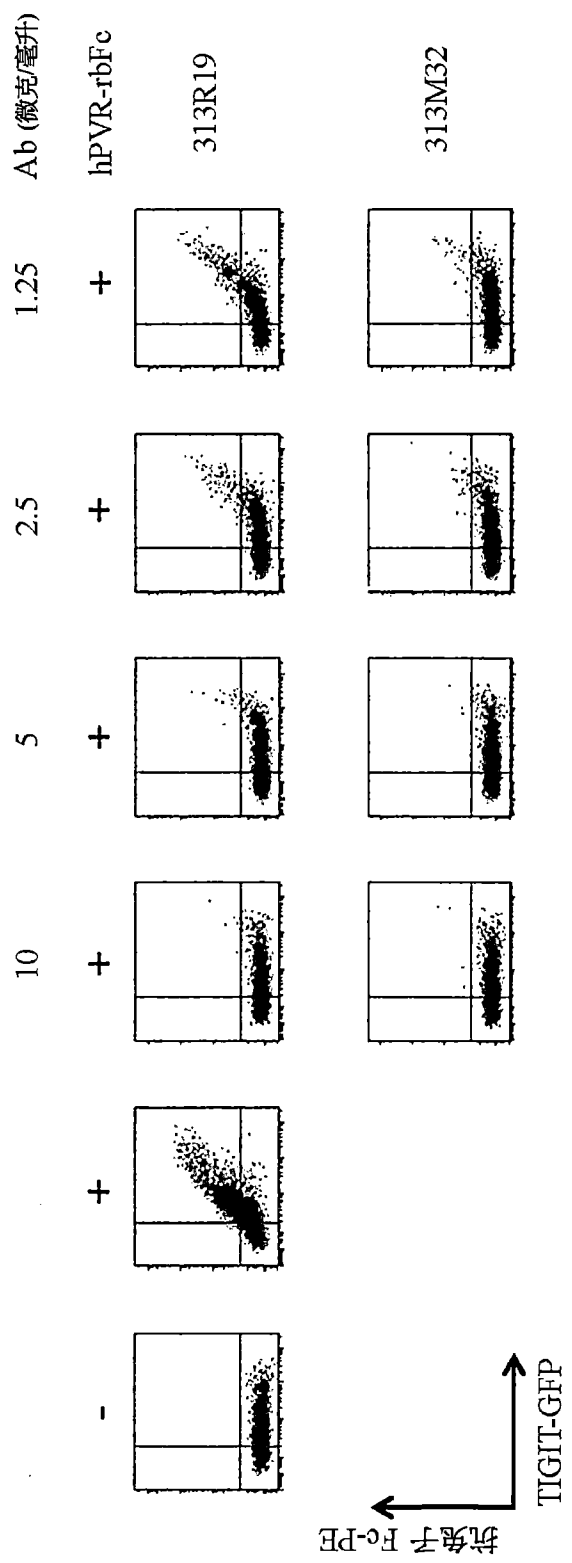
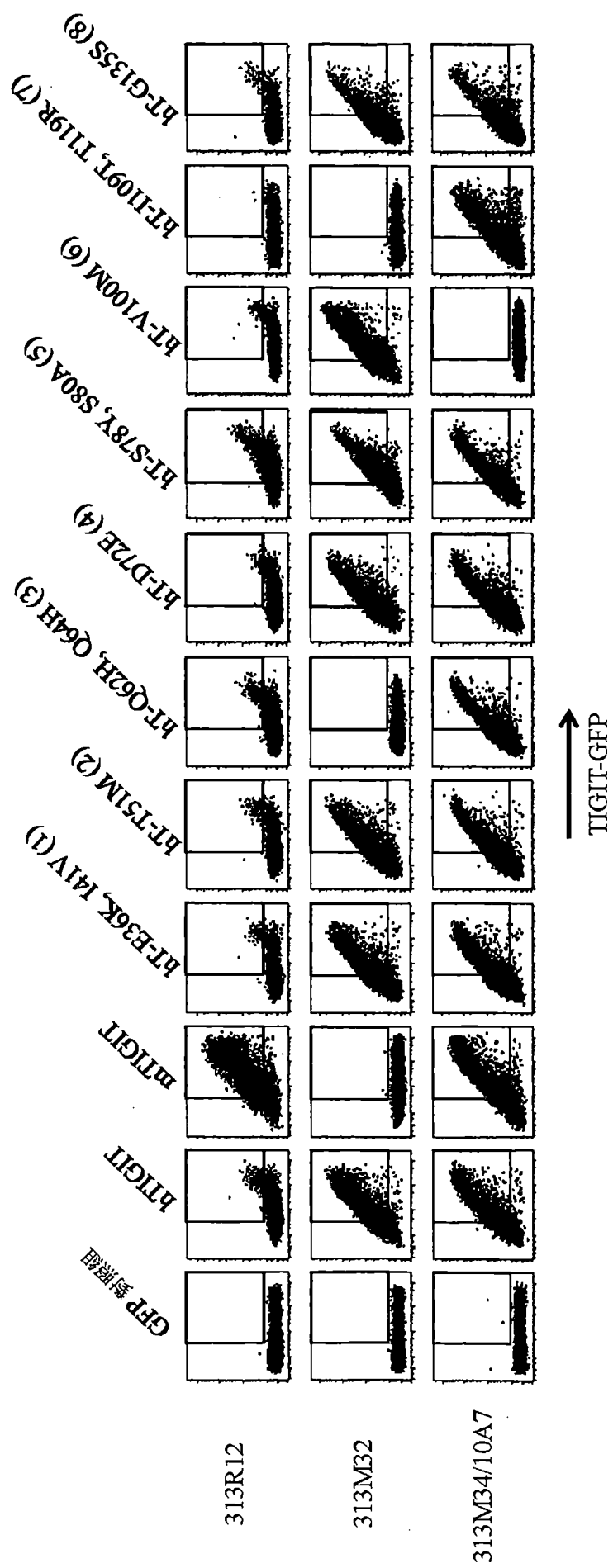


圖 21

人類 TIGIT	MRWCLLLIWAQQLRQAPLASGMMTGITETTGNISAEKGGSIILQCHLSSTTAQVTQVNWE
食蟹獼猴 TIGIT	-----F-----K-----V-----M-----
恆河猴 TIGIT	-----F-----K-----V-----M-----
人類 TIGIT	QQDQ-LLAICNADLGWHISPSFKDRVAPGPGGLTLQSLTVNDTGEYFCIYHTYPDGYT
食蟹獼猴 TIGIT	-H-HS-----R-E-----Y-A-----M-----T-----R
恆河猴 TIGIT	-H-HS-----R-E-----Y-A-----M-----T-----R
人類 TIGIT	GRIFLEVLESSVAEHGARFQI PLLGAMAATLVVICTAVIVVVVALTRKKALRIHSVEGDL
食蟹獼猴 TIGIT	-----S-----S-----MM-----I-----V-A-----S-----SG-
恆河猴 TIGIT	-----S-----S-----MM-----I-----V-A-----S-----SG-
人類 TIGIT	RRKSAGQEEWSPSPAPPPGSCVQAEAAPAGLCGEQGEDCAELHDYFNVLSYRSLGNCSEFFTETG
食蟹獼猴 TIGIT	Q---T---QI-----Q-D-----S-----
恆河猴 TIGIT	Q---T---QI-----Q-D-----S-----
人類 TIGIT SEQ ID NO:4	
食蟹獼猴 TIGIT SEQ ID NO:77	
恆河猴 TIGIT SEQ ID NO:78	

22



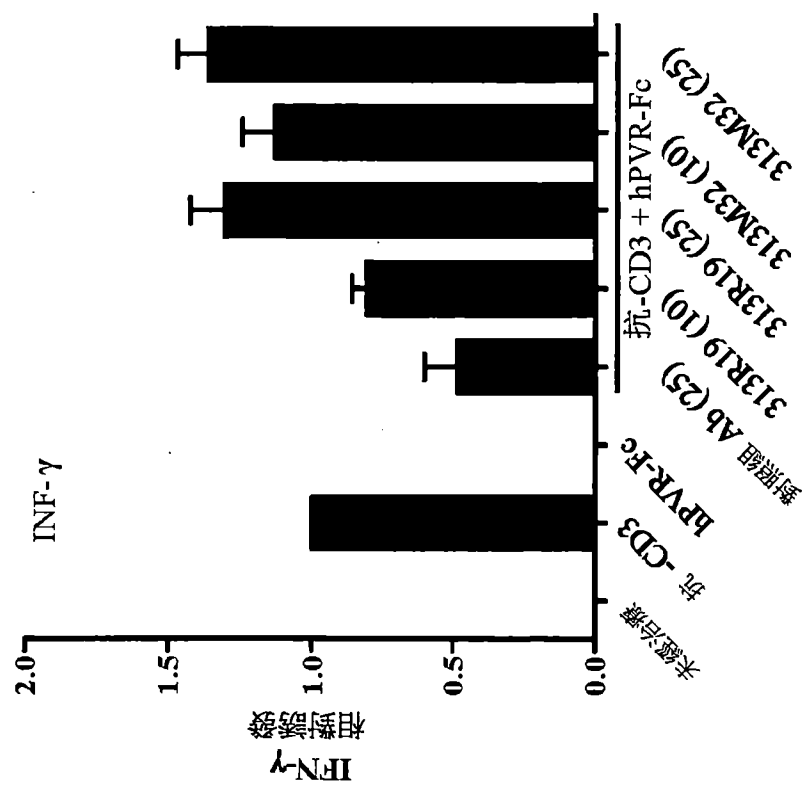
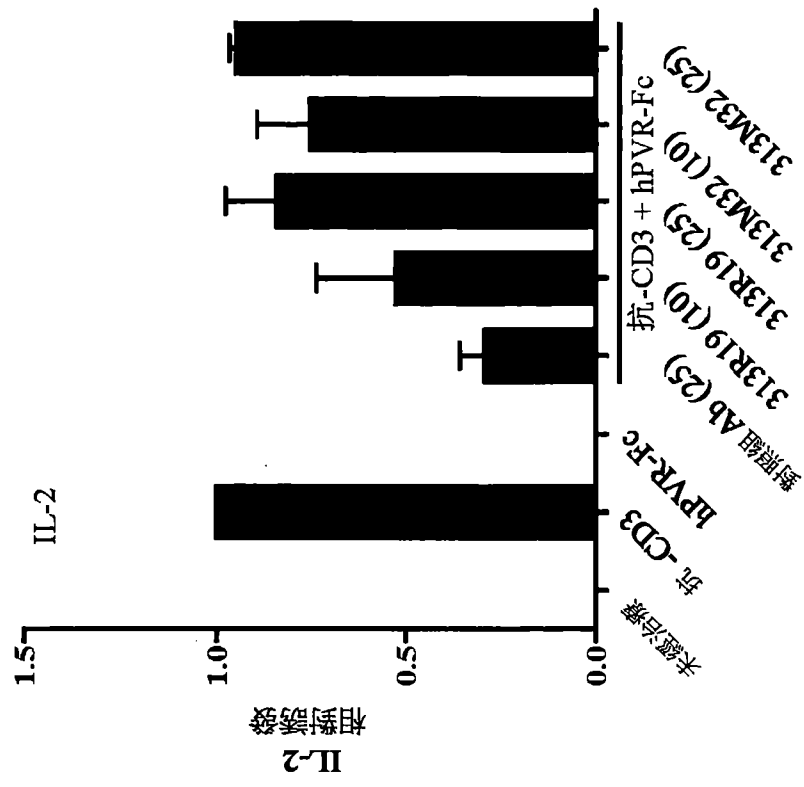


圖 25

圖 26

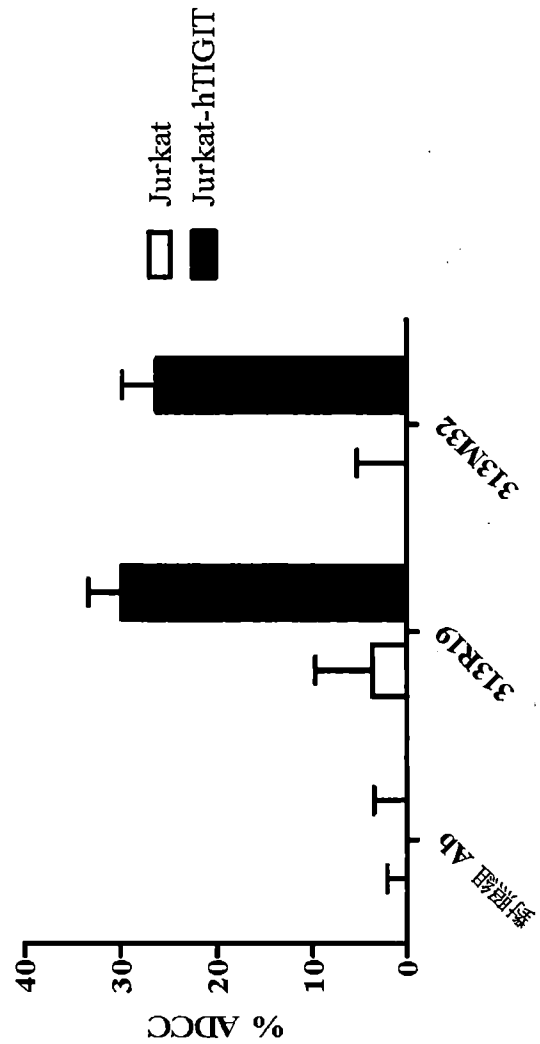


圖 27

