

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992350 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.03.23

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.04.05

(54) КОМБИНИРОВАННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, НАЦЕЛЕННЫЕ НА PD-1, TIM-3 И LAG-3

(31) 62/481,973

(32) 2017.04.05

(33) US

(86) PCT/EP2018/058752

(87) WO 2018/185232 2018.10.11

(71) Заявитель:
СИМФОГЕН А/С (DK)

(72) Изобретатель:

Линдстед Трине, Грандал Майкл
Монрад (DK), Меландер Ева Мария
Карлсен (SE), Фрелих Камилла,
Педерсен Миккель Вандаль, Крагх
Михаэль (DK), Лангто Йохан (SE), Гад
Моника (DK), Хорак Иван Давид (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к комбинированным способам лечения с нацеливанием на два или все из PD-1, TIM-3 и LAG-3 с использованием антител, специфических для этих мишеней у пациентов, которым необходим усиленный иммунитет. Также в изобретение включены композиции, полезные в способах лечения. Способы лечения полезны при лечении таких заболеваний, как рак.

A1

201992350

201992350

A1

КОМБИНИРОВАННЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, НАЦЕЛЕННЫЕ НА PD-1, TIM-3 И LAG-3Ссылка на Родственную Заявку

[0001] Согласно настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на выдачу патента США 62/481973, поданной 5 апреля 2017 г. раскрытие которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Список последовательностей

[0002] Настоящая заявка содержит Список последовательностей, который был электронно представлен в формате ASCII и полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Электронная копия списка последовательностей, созданная 23 марта 2018 г., названа 022675_WO058_SL.txt и имеет размер 232360 бит.

Уровень техники изобретения

[0003] PD-1, также известный как белок запрограммированной смерти клеток 1 и CD279, представляет собой 268 аминокислотный рецептор клеточной поверхности, который принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов. PD-1 является членом семейства CD28 регуляторов Т-клеток и экспрессируется на Т-клетках, В-клетках и макрофагах. Он связывает лиганды PD-L1 (также известный как гомолог B7) и PD-L2 (также известный как B7-DC). PD-1 представляет собой мембранный белок I типа, структура которого содержит внеклеточный домен IgV, трансмембранную область и внутриклеточный хвост, содержащий два сайта фосфорилирования. Известный как белок иммунной контрольной точки, PD-1 функционирует в качестве индуцибельного иммуномодулирующего рецептора, принимающего участие, например, в отрицательной регуляции Т-клеточных ответов на антигенную стимуляцию.

[0004] PD-L1 является основным лигандом для PD-1. Связывание PD-L1 с PD-1 ингибирует Т-клеточную активность, снижая выработку цитокинов и подавляя пролиферацию Т-клеток. Раковые клетки, которые экспрессируют PD-L1, способны использовать этот механизм для инактивации противоопухолевой активности Т-клеток посредством связывания PD-L1 с рецептором PD-1. Ввиду своих свойств регулирования иммунного ответа PD-1 исследовали в качестве потенциальной мишени для иммунотерапии, включая лечение рака и аутоиммунных заболеваний. Для лечения некоторых видов рака в США и Европе были одобрены два антитела против PD-1, пембролизумаб и ниволумаб.

[0005] Другие белки иммунных контрольных точек включают в себя TIM-3 (белок 3, содержащий Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина) и LAG-3 (ген активации лимфоцитов 3). TIM-3, также известный как HAVCR2 (клеточный рецептор 2 вируса гепатита А) или CD366, является членом семейства белков, содержащих Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина. У людей TIM-3 кодируется геном Havcr2 и представляет собой гликопротеин I типа 33 кДа с мембранным дистальным доменом IgV и

мембранным проксимальным доменом муцина. Он содержит консервативную область из пяти остатков Туг во внутриклеточном домене, которые фосфорилируются при связывании лиганда. TIM-3 экспрессируется рядом различных клеток, происходящих как из адаптивных, так и из врожденных ветвей иммунной системы, включая Т-клетки, дендритные клетки, макрофаги и клетки-натуральные киллеры (NK). Экспрессия TIM-3 низка на наивных Т-клетках, но сильно повышается при активации Т-клеток. В отличие от Т-клеток врожденные клетки, такие как дендритные клетки, NK клетки и моноциты, обладают высокой базальной экспрессией TIM-3. TIM-3 связан с несколькими, главным образом промискуитентными, лигандами, включая галектин-9, фосфатидилсерин, CEACAM-1 и HMGB-1, но точная роль этих лигандов в настоящее время неизвестна.

[0006] Хотя было предположено, что TIM-3 является ингибитором контрольной точки, имеется довольно мало доказательств в поддержку идеи, что TIM-3 непосредственно опосредует подавление активации Т-клеток или секреции цитокинов способом, похожим, например, на PD-1. Кроме того, в отличие от PD-1, TIM-3, по-видимому, имеет значение для регуляции клеток врожденной системы и, в частности, дендритных клеток. Большинство функциональных данных, относящихся к TIM-3 и его роли в иммунологии опухоли, получены в исследованиях *in vivo* с использованием различных антител. В большинстве этих исследований из-за плохой проверки антител неясно, опосредовано ли действие антител против TIM-3 ингибированием связывания лиганда или агонистическим действием на мишень. Ввиду его регуляторных свойств иммунного ответа TIM-3 исследовали в качестве потенциальной мишени для иммунотерапии, в том числе для лечения рака и аутоиммунных заболеваний. Одно антитело против TIM-3 в настоящее время находится в клинической разработке, но в настоящее время нет одобренных антител против TIM-3.

[0007] LAG-3, также известный как CD223, представляет собой белок суперсемейства иммуноглобулинов, который функционирует в качестве рецептора иммунной контрольной точки. Зрелый белок представляет собой трансмембранный белок I типа из 503 аминокислот с четырьмя внеклеточными Ig-подобными доменами. Он экспрессируется на различных типах клеток, включая активированные Т-клетки, Т-регуляторные (Treg) клетки, природные клетки-киллеры, В-клетки и плазматоидные дендритные клетки. Информация о данных последовательности, организации экзона/интрона и хромосомной локализации LAG-3 указывает на то, что он тесно связан с CD4. Подобно CD4, LAG-3 связывает молекулы МНС II класса, хотя и с более высокой аффинностью и в отдельном сайте по сравнению с CD4.

[0008] LAG-3 является коингибирующим рецептором, который, как полагают, регулирует пролиферацию, активацию и гомеостаз Т-клеток способом, похожим на CTLA-4 и PD-1. При связывании лиганда с внеклеточным доменом, LAG-3 оказывает свое действие посредством последующей передачи сигналов через цитоплазматический домен. Лучшее всего охарактеризованным лигандом для LAG-3 является МНС II класса (МНСII), но были описаны другие лиганды LAG-3, включая LSECtin. LAG-3 не имеет классических

мотивов ITIM или ITSM, но имеет консервативный мотив KIEELE (SEQ ID NO: 397), который, как считается, необходим для оказания его ингибирующего действия на активность Т-клеток. Точный механизм, с помощью которого LAG-3 влияет на активность Т-клеток, понятен слабо. LAG-3 ингибирует экспансию Т-клеток, блокируя проникновение активированных Т-клеток в фазу роста клеточного цикла, что приводит к накоплению клеток в S-фазе. Также полагают, что LAG-3 имеет значение для усиления подавляющей активности регуляторных Т-клеток и для модулирования функции дендритных клеток. Раковые клетки обладают способностью усиливать экспрессию МНСII, который связывает LAG-3 с эффекторными Т-клетками, тем самым ингибируя их активность и вызывая ускользание опухоли от иммунного ответа.

[0009] Ввиду критической роли PD-1, LAG-3 и TIM-3 в качестве иммуномодуляторов, существует необходимость в новых и улучшенных комбинированных лекарственных средствах, которые нацелены на эти рецепторы, для лечения рака и определенных нарушений иммунной системы.

Сущность изобретения

[0010] Настоящее изобретение основано на открытии, что повышающая иммунитет эффективность антитела против PD-1, такого как описано в настоящем документе, значительно увеличивается при применении антитела в комбинации с антителом против TIM-3 и/или антителом против LAG-3. Авторы настоящего изобретения обнаружили, что комбинированные лекарственные средства согласно настоящему изобретению особенно эффективны при лечении рака у пациента-человека путем активации собственного противоракового иммунитета пациента. По сравнению с доступными в настоящее время способами лечения рака, включая лечение антителами, предполагается, что комбинированные лекарственные средства согласно изобретению могут обеспечить превосходный клинический ответ.

[0011] Соответственно, в настоящем изобретении предложен способ усиления иммунитета у нуждающегося в этом пациента-человека, такого как онкопациент, путем введения пациенту (1) антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, которое конкурирует с антителом, выбранным из группы, состоящей из 12819.15384, 12748.15381, 12748.16124, 12865.15377, 12892.15378, 12796.15376, 12777.15382, 12760.15375 и 13112.15380, за связывание с PD-1 человека или связывается с тем же самым эпитопом PD-1 человека, что и оно; и (2) антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части и/или антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части и антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающей части.

[0012] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 связывается с эпитопом PD-1 человека, содержащим:

- а) остатки V64, L128, P130, K131 и A132 SEQ ID NO: 388;
- б) остатки V44 и T145 SEQ ID NO: 388;

c) остатки K131 и E136 SEQ ID NO: 388; или

d) остатки V44 и T145 SEQ ID NO: 388.

[0013] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 связывается с эпитопом PD-1 человека, содержащим:

a) остатки 56-64, 69-90 и 122-140 SEQ ID NO: 388;

b) остатки 69-90 и 122-140 SEQ ID NO: 388;

c) остатки 69-75 SEQ ID NO: 388;

d) остатки 136-140 SEQ ID NO: 388; или

e) остатки 69-75 и 136-140 SEQ ID NO: 388.

[0014] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

a) связывается с PD-1 человека с KD 750 пМ или менее;

b) связывается с PD-1 яванского макака с KD 7 нМ или менее;

c) связывается с PD-1 мыши с KD 1 нМ или менее;

d) не связывается с PD-1 крысы;

e) увеличивает секрецию IL-2 в анализе стимулированной стафилококковым энтеротоксином В (SEB) цельной крови;

f) увеличивает секрецию IFN- γ в анализе однонаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов;

g) ингибирует взаимодействие PD-1 с PD-L1 по меньшей мере на 60% в концентрации 10 мкг/мл в конкурентном анализе методом проточной цитометрии;

h) блокирует связывание PD-L1 и PD-L2 с PD-1 по меньшей мере на 90% в концентрации 10 мкг/мл, что определяют с помощью анализа методом биослойной интерферометрии; и

i) ингибирует рост опухоли *in vivo*.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет все указанные свойства.

[0015] В некоторых вариантах осуществления определяющие комплементарность области 1-3 тяжелой цепи (H-CDR) и определяющие комплементарность области 1-3 легкой цепи (L-CDR) антитела против PD-1 содержат аминокислотные последовательности из:

a) SEQ ID NO: 228-233, соответственно;

b) SEQ ID NO: 238-243, соответственно;

c) SEQ ID NO: 248-253, соответственно;

d) SEQ ID NO: 258-263, соответственно;

e) SEQ ID NO: 268-273, соответственно;

f) SEQ ID NO: 278-283, соответственно;

g) SEQ ID NO: 288-293, соответственно; или

h) SEQ ID NO: 298-303, соответственно.

[0016] В некоторых вариантах осуществления переменные домены тяжелой и

легкой цепей антитела против PD-1 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 236 и 237, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 236 и 392, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 246 и 247, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 256 и 257, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 266 и 267, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 276 и 277, соответственно;
- h) SEQ ID NO: 286 и 287, соответственно; или
- i) SEQ ID NO: 296 и 297, соответственно.

[0017] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит:

a) тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 227 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 392 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 246 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 247 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

e) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

f) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 267 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

g) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 276 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 277 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

h) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 286 и

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 287 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379; или

i) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 296 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 297 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379.

[0018] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 конкурирует за связывание с TIM-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом TIM-3 человека, что и антитело, выбранное из группы, состоящей из 15086.17145, 15086.15086, 15086.16837, 15086.17144, 20131, 20293, 15105, 15107, 15109, 15174, 15175, 15260, 15284, 15299, 15353, 15354, 17244, 17245, 19324, 19416, 19568, 20185, 20300, 20362 и 20621.

[0019] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 связывается с эпитопом TIM-3 человека, содержащим:

- a) остатки P50, V60, F61, E62, G64, R69, I117, M118 и D120 SEQ ID NO: 389;
- b) остатки F61, R69 и I117 SEQ ID NO: 389; или
- c) остатки P50, F61, E62, I117, M118 и D120 SEQ ID NO: 389.

[0020] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 связывается с эпитопом TIM-3 человека, содержащим:

- a) остатки 62-67 SEQ ID NO: 389; или
- b) остатки 114-117 SEQ ID NO: 389.

[0021] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

- a) связывается с TIM-3 человека с KD 23 нМ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;
- b) связывается с TIM-3 яванского макака с KD 22 нМ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;
- c) связывается с TIM-3 человека с EC50 1,2 нМ или менее, что измеряют с помощью ELISA;
- d) связывается с TIM-3 яванского макака с EC50 46 нМ или менее, что измеряют с помощью ELISA;
- e) увеличивает секрецию IFN- γ в анализе односторонней реакции смешанной культуры лимфоцитов;
- f) увеличивает секрецию IFN- γ в анализе двусторонней реакции смешанной культуры лимфоцитов;
- g) увеличивает секрецию TNF- α в анализе односторонней реакции смешанной культуры лимфоцитов;
- h) увеличивает секрецию TNF- α из дендритных клеток; и
- i) ингибирует взаимодействие TIM-3 с фосфатидилсерином.

В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет по меньшей

мере свойства a), c), d), e), g), h) и i).

[0022] В некоторых вариантах осуществления H-CDR1-3 и L-CDR1-3 антитела против TIM-3 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 8-13, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 18-23, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 28-33, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 38-43, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 48-53, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 58-63, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 68-73, соответственно;
- h) SEQ ID NO: 78-83, соответственно;
- i) SEQ ID NO: 88-93, соответственно;
- j) SEQ ID NO: 98-103, соответственно;
- k) SEQ ID NO: 108-113, соответственно;
- l) SEQ ID NO: 118-123, соответственно;
- m) SEQ ID NO: 128-133, соответственно;
- n) SEQ ID NO: 138-143, соответственно;
- o) SEQ ID NO: 148-153, соответственно;
- p) SEQ ID NO: 158-163, соответственно;
- q) SEQ ID NO: 168-173, соответственно;
- r) SEQ ID NO: 178-183, соответственно;
- s) SEQ ID NO: 188-193, соответственно;
- t) SEQ ID NO: 198-203, соответственно;
- u) SEQ ID NO: 208-213, соответственно; или
- v) SEQ ID NO: 218-223, соответственно.

[0023] В некоторых вариантах осуществления переменные домены тяжелой и легкой цепей антитела против TIM-3 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 16 и 17, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 36 и 37, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 46 и 47, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 56 и 57, соответственно;
- h) SEQ ID NO: 66 и 67, соответственно;
- i) SEQ ID NO: 76 и 77, соответственно;
- j) SEQ ID NO: 86 и 87, соответственно;
- k) SEQ ID NO: 96 и 97, соответственно;
- l) SEQ ID NO: 106 и 107, соответственно;
- m) SEQ ID NO: 116 и 117, соответственно;

- n) SEQ ID NO: 126 и 127, соответственно;
- o) SEQ ID NO: 136 и 137, соответственно;
- p) SEQ ID NO: 146 и 147, соответственно;
- q) SEQ ID NO: 156 и 157, соответственно;
- r) SEQ ID NO: 166 и 167, соответственно;
- s) SEQ ID NO: 176 и 177, соответственно;
- t) SEQ ID NO: 186 и 187, соответственно;
- u) SEQ ID NO: 196 и 197, соответственно;
- v) SEQ ID NO: 206 и 207, соответственно; или
- w) SEQ ID NO: 216 и 217, соответственно.

[0024] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит:

a) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

e) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

f) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

g) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

h) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66 и

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

s) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 177 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

t) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 186 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 187 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

u) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 196 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 197 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

v) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 207 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378; или

w) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 216 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 217 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378.

[0025] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 конкурирует с антителом, выбранным из группы, состоящей из 15532, 15646, 15723, 15595, 15431, 15572 и 15011, за связывание с LAG-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом LAG-3 человека, что и оно.

[0026] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 связывается с эпитопом LAG-3 человека, содержащим:

a) остатки H85, P86, A87, P89, S91, W92 и G93 SEQ ID NO: 68;

b) остатки A40, Q41, P43, P46, P49, D52, T62, Q64, H65, Q66, P67, D68, G93, P94, P96, R98, Y99, T100, V101, P106, G107, R119, E124, R129, G130, D131, S133, R137, P138, D143, R148 и R163 SEQ ID NO: 68;

c) остатки A40, Q41, P43, P46, P49, D52, T62, Q64, H65, Q66, P67, D68, P96, Y99, T100, V101, P106, G107, R119, E124, R129, G130, D131, S133, R137, P138, D143, R148 и R163 SEQ ID NO: 68; или

d) остатки G107, L109, R110 и S111 SEQ ID NO: 68.

[0027] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 связывается с эпитопом LAG-3 человека, содержащим:

a) остатки 98-105 SEQ ID NO: 68;

- b) остатки 78-105 и 123-131 SEQ ID NO: 68;
- c) остатки 23-30, 40-66, 88-105, 123-137 и 148-152 SEQ ID NO: 68; или
- d) остатки 23-30, 40-66, 98-105, 118-137 и 148-161 SEQ ID NO: 68.

[0028] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

a) в концентрации 20 мкг/мл уменьшает связывание LAG-3 человека с МНС II класса человека в клетках A375 более чем на 85% по сравнению с антителом отрицательного контроля, что определяют с помощью конкурентного анализа методом проточной цитометрии;

b) в концентрации 20 мкг/мл уменьшает связывание LAG-3 человека с МНС II класса человека в клетках A375 до 35%-85% по сравнению с антителом отрицательного контроля, что определяют с помощью конкурентного анализа методом проточной цитометрии;

c) блокирует связывание между LAG-3 человека, экспрессируемым в клетках Jurkat, и МНС II класса человека, экспрессируемым в клетках Raji;

d) связывается с LAG-3 человека с EC50 0,1 нМ или менее, что измеряют с помощью проточной цитометрии;

e) связывается с LAG-3 яванского макака с EC50 0,3 нМ или менее, что измеряют с помощью проточной цитометрии;

f) связывается с LAG-3 человека с KD $3,0 \times 10^{-8}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

g) связывается с LAG-3 яванского макака с KD $1,5 \times 10^{-7}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

h) связывается с LAG-3 мыши с KD $3,5 \times 10^{-8}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

i) стимулирует выработку IL-2 в обработанных стафилококковым энтеротоксином В (SEB) мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMC);

j) уменьшает клеточные уровни LAG-3 в Т-клетках человека;

k) уменьшает растворимые уровни LAG-3 в культуре Т-клеток человека;

l) индуцирует регресс роста опухоли *in vivo*;

m) задерживает рост опухоли *in vivo*; и

n) не связывается с тем же самым эпитопом LAG-3 человека, что и антитело 25F7-Lag3.5.

В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет по меньшей мере свойства a), c), d), e), f), g), i), j), k), m) и n).

[0029] В некоторых вариантах осуществления Н-CDR1-3 и L-CDR1-3 антитела против LAG-3 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 318-323, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 308-313, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 328-333, соответственно;

- d) SEQ ID NO: 338-343, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 348-353, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 358-363, соответственно; или
- g) SEQ ID NO: 368-373, соответственно.

[0030] В некоторых вариантах осуществления вариабельные домены тяжелой и легкой цепей антитела против LAG-3 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 306 и 307, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 326 и 327, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 336 и 337, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 346 и 347, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 356 и 357, соответственно; или
- g) SEQ ID NO: 366 и 367, соответственно.

[0031] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит:

a) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 316 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 317 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 307 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 326 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 327 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 336 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 337 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

e) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 346 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 347 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

f) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 356 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 357 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378; или

g) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 366 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379.

[0032] В некоторых вариантах осуществления способ включает введение пациенту:

а) антитела против PD-1, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно; и антитела против TIM-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-13, соответственно;

б) антитела против PD-1, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; и антитела против TIM-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно; или

с) антитела против PD-1, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; и антитела против TIM-3, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378.

[0033] В некоторых вариантах осуществления способ включает введение пациенту:

а) антитела против PD-1, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно; и антитела против LAG-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

б) антитела против PD-1, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; и антитела против LAG-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

с) антитела против PD-1, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; и антитела против LAG-3, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

[0034] В некоторых вариантах осуществления способ включает введение пациенту:

а) антитела против PD-1, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно; антитела против TIM-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-13, соответственно; и антитела против LAG-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

б) антитела против PD-1, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; антитела против TIM-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 4,

соответственно; и антитела против LAG-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

с) антитела против PD-1, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; антитела против TIM-3, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378; и антитела против LAG-3, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

[0035] Антитела или антигенсвязывающие части можно вводить пациенту одновременно (например, в одной фармацевтической композиции) или последовательно.

[0036] Лекарственные средства согласно настоящему изобретению полезны при лечении пациента, у которого есть рак, такой как гематологическая злокачественная опухоль (например, лейкоз, лимфома Ходжкина или неходжкинская лимфома) или солидная опухоль. В некоторых вариантах осуществления у пациента может быть меланома, немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, плоскоклеточный рак головы и шеи, рак яичников, рак толстого кишечника, почечноклеточный рак, карцинома из клеток Меркеля, фибросаркома, глиосаркома или глиобластома. Кроме того, лекарственные средства согласно настоящему изобретению могут включать облучение или по меньшей мере одно из химиотерапевтического средства, противоопухолевого средства и антиангиогенного средства.

[0037] Также в настоящем изобретении представлено полиспецифическое (например, биспецифическое или триспецифическое) антитело, которое специфически связывается с: а) PD-1 человека и TIM-3 человека; б) PD-1 человека и LAG-3 человека; или с) PD-1 человека, TIM-3 человека и LAG-3 человека. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическое антитело содержит антигенсвязывающую часть антитела против PD-1, которое описано в настоящем документе, антигенсвязывающую часть антитела против TIM-3, которое описано в настоящем документе, и/или антигенсвязывающую часть антитела против LAG-3, которое описано в настоящем документе.

[0038] Также в настоящем изобретении предоставлена фармацевтическая композиция, содержащая (1) антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, (2) антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть и/или антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть и (3) фармацевтически приемлемое вспомогательное средство. Антитело против TIM-3 и антитело против LAG-3 можно выбирать из тех, что описаны в настоящем документе.

[0039] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит:

а) антитело против PD-1, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно; антитело против TIM-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-13, соответственно; и антитело против LAG-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

б) антитело против PD-1, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; антитело против TIM-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно; и антитело против LAG-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

с) антитело против PD-1, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; антитело против TIM-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378; и антитело против LAG-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

[0040] Антитела в композиции можно предоставить в равных количествах. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция предназначена для применения при лечении пациента-человека в способе, описанном в настоящем документе. В отдельных вариантах осуществления фармацевтическая композиция предназначена для применения для усиления иммунитета у нуждающегося в этом пациента-человека, например, для лечения рака.

[0041] В настоящем изобретении также представлено антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть, которые описаны в настоящем документе, для применения в способе лечения, описанном в настоящем документе, например, для усиления иммунитета и/или лечения рака у нуждающегося в этом пациента-человека в комбинации с антителом против TIM-3 или его антигенсвязывающей частью и/или антителом против LAG-3 или его антигенсвязывающей частью. Антитело против TIM-3 и антитело против LAG-3 можно выбирать из тех, что описаны в настоящем документе.

[0042] В настоящем изобретении также представлено антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть, которые описаны в настоящем документе, для применения при лечении пациента-человека в способе, описанном в настоящем документе.

[0043] В настоящем изобретении также представлено применение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, которые описаны в настоящем документе, для получения лекарственного средства для усиления иммунитета и/или лечения рака у нуждающегося в этом пациента (например, пациента-человека) в комбинации с антителом против TIM-3 или его антигенсвязывающей частью и/или антителом против LAG-3 или

его антигенсвязывающей частью. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предложено применение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, которые описаны в настоящем документе, и антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части и/или антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающей части, для получения лекарственного средства для усиления иммунитета у нуждающегося в этом пациента-человека, например, для лечения рака. Антитело против TIM-3 и антитело против LAG-3 можно выбирать из тех, что описаны в настоящем документе.

[0044] В настоящем изобретении также представлено применение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, которые описаны в настоящем документе, для получения лекарственного средства для лечения пациента-человека в способе, описанном в настоящем документе.

[0045] В настоящем изобретении дополнительно представлено готовое изделие, содержащее антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, в комбинации с антителом против TIM-3 или его антигенсвязывающей частью и/или антителом против LAG-3 или его антигенсвязывающей частью, причем указанное готовое изделие подходит для усиления иммунитета и/или лечения рака у пациента (такого как пациент-человек), например, в способе лечения, описанном в настоящем документе. Антитело против TIM-3 и антитело против LAG-3 можно выбирать из тех, что описаны в настоящем документе.

Краткое Описание чертежей

[0046] На фиг. 1 представлен набор графиков, показывающий процентное увеличение уровней IFN- γ у трех пар доноров (Панели A-C) после лечения 10 мкг/мл контрольного антитела (IgG1 LALA или IgG2), антитела против PD-1 12819, антитела 15086 против TIM-3.17145 или комбинации антител 12819 и 15086.17145 в соотношении 1:1 после 5 дней культивирования в анализе однонаправленной MLR (реакция смешанной культуры лимфоцитов). Каждая точка на графике представляет двойное значение, а среднее значение показано горизонтальной полосой.

[0047] На фиг. 2 представлен набор графиков, показывающий процентное увеличение уровней IFN- γ у трех пар доноров (Панели A-C) после лечения 10 мкг/мл контрольного антитела (IgG1 LALA или IgG2), антитела против PD-1 12819, антитела 15086 против TIM-3.17145 или комбинации антител 12819 и 15086.17145 в соотношении 1:1 после 5 дней культивирования в анализе двунаправленной MLR. Каждая точка на графике представляет двойное значение, а среднее значение показано горизонтальной полосой.

[0048] На фиг. 3 представлена пара графиков, показывающих действие антитела 15086 против TIM-3.17145 по сравнению с положительным контрольным антителом против PD-1 12819 на пролиферацию Т-клеток в анализе однонаправленной MLR. Антитела добавляли до итоговой концентрации 25 мкг/мл и инкубировали с растворимыми антителами к CD3 (Панель B) или без них (Панель A) в течение 5 дней перед добавлением 1 μ Ci/лунку 3H-тимидина в течение дальнейших 18 часов. Включение

3Н-тимидина в собранные клетки определяли с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика.

[0049] На фиг. 4 представлен график, показывающий действие антитела 15086 против TIM-3.17145 на секрецию IL-12p40 из полученных из моноцитов дендритных клеток, инкубированных в течение 5 дней с 10 мкг/мл антитела. Уровни IL-12p40 в супернатантах клеток определяли с использованием ELISA.

[0050] На фиг. 5 представлена пара графиков, показывающих уровни экспрессии выбранных маркеров активации в полученных из моноцитов дендритных клетках после лечения 25 мкг/мл антитела 15086 против TIM-3.17145 в течение 24 часов. На панели А показан анализ экспрессии генов нескольких маркеров активации и костимулирующих молекул. На панели В показано подтверждение повышенных уровней CD80 и Cd86 с использованием FACS. Показанные наложения гистограмм представляют дендритные клетки CD11c+, и числа рядом с гистограммами обозначают значения MFI (средней интенсивности флюоресценции).

[0051] На фиг. 6 представлен график, показывающий воздействие нацеливания TIM-3 на рост опухоли в CD34+ гуманизированной мышинной модели NSG-SGM3 с имплантированной ксенотрансплантатной моделью LG1306, полученной из легкого пациента-человека (PDX). Мышей лечили антителом против TIM-3 15086.17145 в начальной дозе 10 мг/кг с последующей 5 мг/кг 5х Q5D. Серая область обозначает период лечения. Данные представлены в виде средних значений $\pm$ SEM. ** $p < 0,01$.

[0052] На фиг. 7 представлена пара графиков, показывающих усиленное воздействие на уровни IL-2 комбинирования антитела 12819 против PD-1 с антителом 15532 против LAG-3 и/или антителом 15086.17145 против TIM-3 в анализе SEB (стафилококкового энтеротоксина В) + PBMC (моноклеарных клеток периферической крови) для двух пар доноров (Панели А и В). Столбики показывают секрецию IL-2 из PBMC, обработанных 10 мкг/мл указанных антител или смесей антител и SEB в течение 48 часов. Знаки над столбиками показывают раздельное лечение, которое значительно отличается ($p < 0,05$) от контрольного антитела (*), или смеси двух антител, которые значительно отличаются от лечения составляющими отдельными антителами (#).

[0053] На фиг. 8 представлена пара графиков, показывающих действие на рост опухоли 10 мг/кг антитела 12819 против PD-1, антитела C9B7W против LAG-3 (которое способно реагировать с LAG-3 мыши) или комбинации антител против PD-1 и против LAG-3 или лечение нейтральной основой в двух сингенных мышинных опухолевых моделях: MC38 (рак толстой кишки, Панель А) и ASB-XIV (рак легкого, Панель В). Серая область обозначает период лечения. Данные представлены в виде средних значений $\pm$ SEM (стандартная ошибка среднего значения). ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

[0054] На фиг. 9 представлен график, показывающий действие на рост опухоли 10 мг/кг антитела 12819 против PD-1, антитела 15011 против LAG-3 или комбинации антител против PD-1 и против LAG-3 или лечение нейтральной основой, в ASB-XIV сингенной мышинной опухолевой модели. Серая область обозначает период лечения. Данные

представлены в виде средних значений $\pm$ SEM. * $p < 0,05$, **** $p < 0,0001$.

[0055] На фиг. 10 представлена пара графиков, показывающих действие на рост опухоли антитела 12819 против PD-1, антитела 5D12 против TIM-3 или комбинации антител против PD-1 и против TIM-3 или действие лечения нейтральной основой на рост опухоли в двух сингенных мышинных опухолевых моделях: ASB-XIV (рак легкого, Панель А) и Sa1N (фибросаркома, Панель В). Лечение антителами у мышей с опухолями ASB-XIV проводили в дозе 10 мг/кг/мишень. Мышам с опухолями Sa1N вводили антитела против PD-1 и против TIM-3 в дозе 1 мг/кг и 10 мг/кг, соответственно. Серая область обозначает период лечения. Данные представлены в виде средних значений $\pm$ SEM. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, и **** $p < 0,0001$.

[0056] На фиг. 11 представлен набор графиков, показывающих действие на рост опухоли 10 мг/кг антитела 12819 против PD-1, антитела 15086 против TIM-3 или комбинации антител против PD-1 и против TIM-3 или лечение нейтральной основой в модели человеческого ксенотрансплантата опухоли, где мышам с воссозданными PBMC человека имплантировали клеточную линию A375 меланомы человека. В каждом эксперименте использовали одного человека-донора PBMC, и на трех графиках представлено три разных донора (Панели А-С). Серая область обозначает период лечения. Данные представлены в виде средних значений $\pm$ SEM. * $p < 0,05$ и ** $p < 0,01$.

[0057] На фиг. 12 представлен набор графиков, показывающих действие отдельного и двойного нацеливания PD-1 и TIM-3 на процентное значение выживания (Панель А) и рост опухоли (Панели В-Е) у NOD-scid мышей с имплантированной смесью PBMC человека и клеток меланомы A375. Мышей лечили антителом 12819 против PD-1, антителом 15086.17145 против TIM-3 или комбинацией антител против PD-1 и против TIM-3. Лечение антителами проводили в дозе 10 мг/кг три раза в неделю для каждого антитела. Серая область обозначает период лечения. Данные на панели А представлены в виде процентного значения мышей с размером опухоли $< 400 \text{ мм}^3$ в каждой группе лечения с течением времени.

[0058] На фиг. 13 представлен набор графиков, показывающих влияние отдельного, двойного и тройного нацеливания PD-1, LAG-3 и TIM-3 на процентное значение выживания (Панель А) и рост опухоли (Панели В-Н) в сингенной опухолевой модели ASB-XIV с использованием антитела 12819 против PD-1, антитела C9B7W против LAG-3, антитела 5D12 против TIM-3, комбинации антител против PD1 и против LAG3, комбинации антител против PD1 и против TIM-3 или «тройного комбинирования» (которое относится к комбинации антител против PD-1, против LAG-3 и против TIM-3). Лечение антителами проводили в дозе 10 мг/кг для каждого антитела. Серая область обозначает период лечения.

Подробное Описание Изобретения

[0059] В настоящем изобретении предложены новые комбинированные лекарственные средства и композиции, которые нацелены на PD-1 человека, TIM-3 человека и/или LAG-3 человека за счет использования антител, которые связывают эти

мишени. Лекарственные средства и композиции можно использовать для усиления иммунной системы у пациента-человека, такого как онкопациент. В рамках настоящего изобретения если не указано иное «PD-1» относится к PD-1 человека. Полипептидная последовательность PD-1 человека доступна под учетным номером Uniprot Q15116, показанном в данном документе, как SEQ ID NO: 388. В рамках настоящего изобретения если не указано иное «TIM-3» относится к TIM-3 человека. Полипептидная последовательность TIM-3 человека доступна под учетным номером Uniprot Q8TDQ0, показанном в данном документе, как SEQ ID NO: 389. В рамках настоящего изобретения если не указано иное «LAG-3» относится к LAG-3 человека. Полипептидная последовательность LAG-3 человека доступна под учетным номером Uniprot P18627, показанные в данном документе, как SEQ ID NO: 390.

[0060] Термин «антитело» (Ab) или «иммуноглобулин» (Ig), в рамках настоящего изобретения относится к тетрамеру, содержащему две тяжелые (H) цепи (приблизительно 50-70 кДа) и две легкие (L) цепи (приблизительно 25 кДа), взаимосвязанные дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из переменного домена тяжелой цепи (VH) и константной области тяжелой цепи (CH). Каждая легкая цепь состоит из переменного домена легкой цепи (VL) и константной области легкой цепи (CL). Домены VH и VL можно дополнительно подразделить на области гипервариабельности, называемые «определяющие комплементарность области» (CDR), перемежающиеся с областями, которые являются более консервативными, называемыми «каркасные области» (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR (H-CDR в настоящем документе обозначает CDR из тяжелой цепи; а L-CDR в настоящем документе обозначает CDR из легкой цепи) и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксильному концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Назначение номеров аминокислот в тяжелой или легкой цепи может происходить в соответствии с определениями IMGT® (Lefranc et al. *Dev Comp Immunol* 27(1):55-77 (2003)); или определениями Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, MD (1987 и 1991)); Chothia & Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987); или Chothia et al. *Nature* 342:878-883 (1989). Если не указано иное, все номера аминокислотных остатков антител, упоминаемых в этом раскрытии, представляют собой номера по схеме нумерации IMGT®.

[0061] Термин «рекомбинантное антитело» относится к антителу, которое экспрессируется из клетки или клеточной линии, содержащему нуклеотидную последовательность (последовательности), которые кодируют антитело, причем указанная нуклеотидная последовательность (последовательности) не связаны естественным образом с клеткой.

[0062] Термин «выделенный белок», «выделенный полипептид» или «выделенное антитело» относится к белку, полипептиду или антителу, которые из-за своего происхождения или источника получения (1) не связаны с природно ассоциированными компонентами, которые его сопровождают в нативном состоянии, (2) не содержат других белков того же вида, (3) экспрессируются клеткой другого вида и/или (4) не встречаются в

природе. Таким образом, полипептид, который синтезирован химически или синтезирован в клеточной системе, отличающейся от клетки, из которой он естественным образом происходит, будет «выделен» из его природно ассоциированных компонентов. Белок также можно сделать по существу не содержащим природно ассоциированных компонентов путем выделения с использованием технологий очистки белков, хорошо известных в данной области.

[0063] Термин «аффинность» относится к мере притяжения между антигеном и антителом. Присущую силу притяжения антитела для антигена обычно выражают в виде константы равновесия аффинности связывания (KD) конкретного взаимодействия антитело-антиген. Считается, что антитело специфически связывается с антигеном, когда KD составляет ≤ 1 мМ, предпочтительно ≤ 100 нМ. Константу аффинности связывания KD можно измерять, например, с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR) (BIAcore™) или биослойной интерферометрии, например, с использованием системы IBIS MX96 SPR от IBIS Technologies, системы ProteOn™ XPR36 SPR от Bio-Rad или системы Octet™ от ForteBio.

[0064] Термин «koff» относится к константе скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Константу скорости диссоциации koff можно измерять, например, с помощью биослойной интерферометрии, например, с использованием одной из перечисленных выше систем.

[0065] Термин «эпитоп» в рамках настоящего изобретения относится к участку (детерминанте) антигена, который специфически связывается с антителом или связанной молекулой, такой как биспецифическая связывающая молекула. Эпитопные детерминанты обычно состоят из химически активных поверхностных групп молекул, таких как боковые цепи аминокислот или углеводов или сахаров, и обычно имеют специфические трехмерные структурные характеристики, а также специфические характеристики заряда. Эпитоп может быть «линейным» или «конформационным». В линейном эпитопе все точки взаимодействия между белком (например, антигеном) и взаимодействующей молекулой (такой как антитело) расположены линейно вдоль первичной аминокислотной последовательности белка. В конформационном эпитопе точки взаимодействия расположены поперек аминокислотных остатков на белке, которые отделены друг от друга в первичной аминокислотной последовательности. После определения нужного эпитопа на антигене можно получать антитела к этому эпитопу с использованием технологий, хорошо известных в данной области. Например, антитело к линейному эпитопу можно получать, например, путем иммунизации животного пептидом, имеющим аминокислотные остатки линейного эпитопа. Антитело к конформационному эпитопу можно получать, например, путем иммунизации животного мини-доменом, содержащим соответствующие аминокислотные остатки конформационного эпитопа. Антитело к конкретному эпитопу также можно получить, например, путем иммунизации животного интересующей молекулой-мишенью или соответствующей ее частью, затем скрининга на связывание с эпитопом.

[0066] Связывается ли антитело с тем же самым эпитопом, что и антитело, которое описано в настоящем документе, или конкурирует за связывание с ним, можно определить за счет использования способов, известных в данной области, включая, без ограничения, конкурентные анализы, эпитоп-специфическая сортировка и аланиновое сканирование. В некоторых вариантах осуществления тестируемое антитело и антитело, которое описано в настоящем документе, связывают по меньшей мере с одним общим остатком (например, по меньшей мере с двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью, восемью или девятью остатками) на белке-мишени (т.е. TIM-3, PD-1 или LAG-3). В дополнительных вариантах осуществления контактные остатки в белке-мишени полностью идентичны между тестируемым антителом и антителом, которое описано в настоящем документе. В одном варианте осуществления обеспечивают связывание антитела, которое описано в настоящем документе, с белком-мишенью в условиях насыщения, а затем измеряют способность тестируемого антитела связываться с белком-мишенью. Если тестируемое антитело способно связываться с белком-мишенью одновременно с эталонным антителом, то тестируемое антитело связывается с другим эпитопом, чем эталонное антитело. Однако, если тестируемое антитело не способно одновременно связываться с белком-мишенью, то тестируемое антитело связывается с тем же самым эпитопом, перекрывающимся эпитопом или эпитопом, который находится в непосредственной близости к эпитопу, связанному антителом, которое описано в настоящем документе. Этот эксперимент можно проводить с использованием, например, ELISA, RIA, BIACORE™, SPR, биослойной интерферометрии или проточной цитометрии. Для тестирования, конкурирует ли антитело с другим антителом, можно применить описанный выше метод конкуренции в двух направлениях, т.е. определение, блокирует ли известное антитело тестируемое антитело и наоборот. Подобные эксперименты с перекрестной конкуренцией можно проводить, например, с использованием прибора IBIS MX96 SPR или системы Octet™.

[0067] Термин «химерное антитело» в самом широком смысле относится к антителу, которое содержит одну или более областей из одного антитела и одну или более областей из одного или более других антител, обычно это антитело, которое имеет частично человеческое происхождение, а частично нечеловеческое происхождение, т.е. частично получено от нечеловеческого животного, например, мыши, крысы или другого грызуна или птицы, такой как курица. Химерные антитела являются предпочтительными по сравнению с нечеловеческими антителами, чтобы снизить риск антительного ответа у человека, например, ответа человеческих противомышиных антител в случае мышиногo антитела. Примером обычного химерного антитела является антитело, в котором последовательности переменного домена являются мышинными, тогда как последовательности константной области являются человеческими. В случае химерного антитела нечеловеческие части можно подвергать дополнительному изменению, чтобы гуманизировать антитело. Химерные антитела, описанные в настоящем документе, имеют куриные последовательности переменного домена и человеческие последовательности

константной области.

[0068] Термин «гуманизировать» относится к тому факту, что, когда антитело имеет полностью или частично нечеловеческое происхождение (например, мышинное или куриное антитело, полученное в результате иммунизации мышей или куриц, соответственно, интересующим антигеном, или химерное антитело на основе такого мышинного или куриного антитела), можно заменить некоторые аминокислоты, в частности в каркасных областях и константных областях тяжелой и легкой цепей, чтобы избежать или минимизировать иммунный ответ у людей. Хотя невозможно точно спрогнозировать иммуногенность и, следовательно, антительный ответ у человека на конкретное антитело, нечеловеческие антитела имеют тенденцию быть более иммуногенными у людей, чем человеческие антитела. Было показано, что химерные антитела, где инородные константные области (например, грызунов или птиц) были заменены последовательностями человеческого происхождения, обычно являются менее иммуногенными, чем антитела полностью инородного происхождения, и в терапевтических антителах наблюдается тенденция к гуманизированным или полностью человеческим антителам. Таким образом, чтобы снизить риск антительного ответа у человека, можно гуманизировать химерные антитела или другие антитела нечеловеческого происхождения.

[0069] Для химерных антител гуманизация обычно включает модифицирование каркасных областей последовательностей вариабельного домена. В связи с гуманизацией чаще всего не следует изменять аминокислотные остатки, которые являются частью определяющих комплементарность областей (CDR), хотя в некоторых случаях может быть необходимо изменить отдельные аминокислотные остатки CDR, например, для удаления сайта гликозилирования, сайта дезамидирования, сайта изомеризации аспартата или ненужного остатка цистеина или метионина. N-связанное гликозилирование происходит путем присоединения олигосахаридной цепи к остатку аспарагина в трипептидной последовательности Asn-X-Ser или Asn-X-Thr, где X может быть любая аминокислота за исключением Pro. Удаление сайта N-гликозилирования можно обеспечить за счет мутации либо остатка Asn, либо Ser/Thr с другим остатком, предпочтительно путем консервативного замещения. Дезамидирование остатков аспарагина и глутамина может происходить в зависимости от таких факторов, как pH и поверхностное воздействие. Особенно чувствительны к дезамидированию остатки аспарагина, прежде всего, когда они присутствуют в последовательности Asn-Gly, и в меньшей степени в других дипептидных последовательностях, таких как Asn-Ala. Когда в последовательности CDR представлен такой сайт дезамидирования, в частности Asn-Gly, может быть поэтому желательно удалить сайт, обычно путем консервативного замещения, для удаления одного из вовлеченных остатков.

[0070] В данной области известно множество способов гуманизации последовательности антител; см., например, обзор Almagro & Fransson, *Front Biosci.* 13: 1619-1633 (2008). Одним из обычно используемых способов является трансплантация

CDR, которая, например, для химерного антитела, полученного у мыши, включает идентификацию аналогов гена зародышевой линии человека по генам переменного домена мыши и трансплантацию в этот каркас последовательностей мышьиной CDR. Специфичность взаимодействия антитела с антигеном-мишенью заключается главным образом в аминокислотных остатках, расположенных в шести CDR тяжелой и легкой цепи. Следовательно, аминокислотные последовательности в CDR гораздо более переменны между отдельными антителами, чем последовательности вне CDR. Поскольку последовательности CDR ответственны за большинство взаимодействий антитело-антиген, можно экспрессировать рекомбинантные антитела, которые имитируют свойства специфического встречающегося в природе антитела или, в более общем случае, любого специфического антитела с данной аминокислотной последовательностью, например, путем конструирования векторов экспрессии, которые экспрессируют последовательности CDR из конкретного антитела, трансплантированные в каркасные последовательности из другого антитела. В результате, можно «гуманизировать» нечеловеческое антитело и при этом по существу сохранить специфичность связывания и аффинность исходного антитела. Трансплантация CDR может быть основана на определениях CDR Кабата, хотя в более поздней публикации (Magdelaine-Beuzelin et al., *Crit Rev. Oncol Hematol.* 64: 210-225 (2007)) высказано предположение, что определение IMGT® (международная информационная система® ImMunoGeneTics, www.imgt.org) может улучшить результат гуманизации (см. Lefranc et al., *Dev. Comp Immunol.* 27: 55-77 (2003)).

[0071] В некоторых случаях трансплантация CDR может снижать специфичность и аффинность связывания и, следовательно, биологическую активность нечеловеческого антитела с трансплантированной CDR по сравнению с родительским антителом, из которого получены CDR. Для восстановления специфичности и аффинности связывания родительского антитела в выбранные позиции антитела с трансплантированной CDR, обычно в каркасных областях, можно вводить обратные мутации (иногда называемые «восстановление каркаса»). Позиции для возможных обратных мутаций можно идентифицировать с использованием информации доступной в литературе и базах данных антител. Аминокислотными остатками, которые являются кандидатами для обратных мутаций, обычно являются остатки, которые находятся на поверхности молекулы антитела, тогда как остатки, которые находятся внутри или которые имеют низкую степень воздействия на поверхность, обычно не будут изменяться.

[0072] Альтернативной технологией гуманизации для трансплантации CDR и обратной мутации является изменение поверхности, при которой не открытые на поверхности остатки нечеловеческого происхождения сохраняют, в то время как остатки на поверхности изменяют на остатки человека.

[0073] В некоторых случаях для улучшения аффинности связывания с эпитопом-мишенью может быть необходимо изменить один или более аминокислотных остатков CDR. Это известно как «созревание аффинности». В данной области известны различные

способы созревания аффинности, например, метод сканирующего насыщающего мутагенеза *in vitro*, описанный Burks et al. Proc Natl Acad Sci USA, 94:412-417 (1997), и метод поэтапного созревания аффинности *in vitro* Wu et al. Proc Natl Acad Sci USA 95:6037-6042 (1998).

[0074] Термин «человеческое антитело» относится к антителу, в котором последовательности вариабельного домена и константной области получают из человеческих последовательностей. Термин охватывает антитела с последовательностями, которые получены из генов человека, но были модифицированы, например, для уменьшения иммуногенности, увеличения аффинности и/или увеличения стабильности. Кроме того, термин охватывает антитела, полученные рекомбинантно с использованием полученных от человека последовательностей в нечеловеческих клетках, которые могут передавать гликозилирование, не характерное для клеток человека. Термин также охватывает антитела, полученные в трансгенных нечеловеческих организмах с генами антител человека (например, у крыс OmniRat®).

[0075] В рамках настоящего изобретения термин «антигенсвязывающая часть» антитела (или просто «часть антитела»), относится к одному или более участкам или фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном (например, TIM-3 человека, PD-1 человека или LAG-3 человека или их частями). Было показано, что некоторые фрагменты полноразмерного антитела могут выполнять антигенсвязывающую функцию антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином «антигенсвязывающая часть», включают в себя (i) фрагмент Fab: моновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; (ii) фрагмент F(ab')₂: бивалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, (v) фрагмент dAb, который состоит из домена VH; и (vi) выделенную определяющую комплементарность область (CDR), способную специфически связываться с антигеном. Кроме того, хотя два домена фрагмента Fv, VL и VH кодируются отдельными генами, их можно объединить, используя рекомбинантные способы, синтетическим линкером, который позволяет получить их в виде единой белковой цепи, в которой пара доменов VL и VH образует моновалентные молекулы (известные как одноцепочечные Fv (scFv)). Также в рамках изобретения находятся антигенсвязывающие молекулы, содержащие VH и/или VL. В случае VH молекула может также содержать одно или более из области CH1, шарнира, CH2 или CH3. Подобные одноцепочечные антитела также предполагают охват термином «антигенсвязывающая часть» антитела. Также охвачены другие формы одноцепочечных антител, такие как диатела. Диатела представляют собой бивалентные, биспецифические антитела, в которых домены VH и VL экспрессируются на одной полипептидной цепи, но с использованием линкера, который является слишком коротким, чтобы обеспечить спаривание между двумя доменами на одной и той же цепи, тем самым вынуждая домены спариваться с комплементарными доменами другой цепи и создавая два

антигенсвязывающих сайта.

[0076] Части антител, такие как фрагменты Fab и F(ab')₂, можно получать из целых антител с использованием общепринятых методов, таких как расщепление целых антител папаином или пепсином. Кроме того, антитела, части антител и молекулы иммуноадгезии можно получать с использованием стандартных методов рекомбинантной ДНК, например, которые описаны в настоящем документе.

[0077] Класс (изотип) и подкласс описанных в настоящем документе антител можно определить любым способом, известным в данной области. Обычно, класс и подкласс антитела можно определить с использованием антител, которые являются специфическими для конкретного класса и подкласса антитела. Такие антитела имеются в продаже. Класс и подкласс можно определить с помощью ELISA и вестерн-блоттинга, а также других методов. Альтернативно, класс и подкласс можно определить путем секвенирования всех или части константных областей тяжелых и/или легких цепей антител, сравнения их аминокислотных последовательностей с известными аминокислотными последовательностями различных классов и подклассов иммуноглобулинов и определения класса и подкласса антител. Предпочтительным изотипом согласно настоящему изобретению является изотип IgG.

[0078] При ссылке на конкретные аминокислотные остатки в данной позиции последовательности антитела указание, например, «35S» относится к позиции и остатку, то есть в этом случае указывает на наличие остатка серина (S) в позиции 35 последовательности. Точно так же указание, например, «13Q+35S» относится к двум остаткам в соответствующих позициях. Если не указано иное, все номера аминокислотных остатков антител, упомянутые в этом описании, соответствуют номерам в схеме нумерации IMGT®.

Антитела против PD-1

[0079] В некоторых вариантах осуществления антитела против PD-1, раскрытые в настоящем документе, могут быть химерными, с вариабельными доменами, полученными от куриц, и человеческими константными областями, или могут быть гуманизированными.

[0080] Антитела против PD-1, раскрытые в настоящем документе, могут быть обозначены либо 5-значным номером, например, «12819», либо 10-значным номером, например, «12819.15384». В рамках настоящего изобретения 5-значный номер относится ко всем антителам, имеющим последовательности CDR1-3 тяжелой и легкой цепей, показанные для этого номера, тогда как применение 10-значного номера относится к конкретному гуманизированному варианту. Например, 12819.15384 представляет собой конкретный гуманизированный вариант, имеющий последовательности CDR антитела 12819. 5-значный номер охватывает, например, 10-значные варианты, которые являются идентичными за исключением некоторых изменений в FR (например, отсутствие остатков SY на N-конце зрелой легкой цепи или наличие остатков SS вместо SY). Эти модификации не изменяют функциональные (например, антигенсвязывающие) свойства

антител.

[0081] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция содержит антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, причем антитело против PD-1 представляет собой антитело, упоминаемое в настоящем документе, как антитело 12819.15384, 12748.15381, 12748.16124, 12865.15377, 12892.15378, 12796.15376, 12777.15382, 12760.15375 или 13112.15380 или вариант любого из них, причем вариант может, например, содержать некоторые минимальные аминокислотные изменения относительно указанного антитела (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных изменений, которые могут быть, например, в каркасных областях) без потери антигенсвязывающей специфичности антитела.

[0082] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 конкурирует с любым из антител 12819.15384, 12748.15381, 12748.16124, 12865.15377, 12892.15378, 12796.15376, 12777.15382, 12760.15375 и 13112.15380 за связывание с PD-1 человека или связывается с тем же самым эпитопом PD-1 человека, что и они.

[0083] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против PD-1 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может конкурировать или перекрестно конкурировать с антителами 12865, 12892 и 12777 (например, антителами 12865.15377, 12892.15378 и 12777.15382) за связывание с PD-1. В некоторых вариантах осуществления любое из антител против PD-1 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может конкурировать или перекрестно конкурировать с антителом 12819 (например, антителом 12819.15384) за связывание с PD-1. В некоторых вариантах осуществления любое из антител против PD-1 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может конкурировать или перекрестно конкурировать с антителами 12760 и 13112 (например, антителами 12760.15375 и 13112.15380) за связывание с PD-1. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет формат IgG1 или IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет формат IgG1.

[0084] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 конкурирует или перекрестно конкурирует с антителом, CDR1-3 тяжелой цепи (H) и CDR1-3 легкой цепи (L) которого содержат, соответственно, SEQ ID NO: 228-233, 238-243, 248-253, 258-263, 268-273, 278-283, 288-293 или 298-303, за связывание с PD-1 человека, или связывается с тем же самым эпитопом PD-1 человека, что и оно.

[0085] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит H-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность H-CDR3 SEQ ID NO: 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290 или 300.

[0086] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит H-CDR1-3, содержащие аминокислотные последовательности H-CDR1-3, соответственно, из SEQ ID NO: 228-230, 238-240, 248-250, 258-260, 268-270, 278-280, 288-290 или 298-300.

[0087] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет VH, аминокислотная последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей

мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 226, 236, 246, 256, 266, 276, 286 или 296.

[0088] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет VH, который содержит SEQ ID NO: 226, 236, 246, 256, 266, 276, 286 или 296.

[0089] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет VH, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 226, 236, 246, 256, 266, 276, 286 или 296; и CH, последовательность которой по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 375.

[0090] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет HC, которая содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO: 226, 236, 246, 256, 266, 276, 286 или 296 и аминокислотную последовательность CH SEQ ID NO: 375.

[0091] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет L-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность L-CDR3 SEQ ID NO: 233, 243, 253, 263, 273, 283, 293 или 303.

[0092] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит L-CDR1-3, содержащие аминокислотные последовательности L-CDR1-3, соответственно, SEQ ID NO: 231-233, 241-243, 251-253, 261-263, 271-273, 281-283, 291-293 или 301-303.

[0093] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности VL SEQ ID NO: 227, 237, 247, 257, 267, 277, 287, 297 или 392.

[0094] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет VL, который содержит аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 227, 237, 247, 257, 267, 277, 287, 297 или 392.

[0095] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности VL SEQ ID NO: 227, 237, 247, 257, 267, 277, 287, 297 или 392; и CL, последовательность которой по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 379.

[0096] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет LC, которая содержит аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 227, 237, 247, 257, 267, 277, 287, 297 или 392 и аминокислотную последовательность CL SEQ ID NO:

379.

[0097] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит любую из приведенных выше последовательностей тяжелой цепи и любую из приведенных выше последовательностей легкой цепи.

[0098] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит H-CDR3 и L-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности H-CDR3 и L-CDR3, соответственно, из SEQ ID NO: 230 и 233, 240 и 243, 250 и 253, 260 и 263, 270 и 273, 280 и 283, 290 и 293 или 300 и 303.

[0099] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит H-CDR1-3 и L-CDR1-3, содержащие последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3, соответственно, из SEQ ID NO: 228-233, 238-243, 248-253, 258-263, 268-273, 278-283, 288-293 или 298-303.

[0100] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит VH, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 226, 236, 246, 256, 266, 276, 286 или 296, и VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 227, 237, 247, 257, 267, 277, 287, 297 или 392.

[0101] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет VH, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226, 236, 246, 256, 266, 276, 286 или 296, и VL, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 227, 237, 247, 257, 267, 277, 287, 297 или 392.

[0102] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 имеет HC, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226, 236, 246, 256, 266, 276, 286 или 296 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; и LC, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 227, 237, 247, 257, 267, 277, 287, 297 или 392 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379.

[0103] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 из:

- a) SEQ ID NO: 228-233, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 238-243, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 248-253, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 258-263, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 268-273, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 278-283, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 288-293, соответственно; или
- h) SEQ ID NO: 298-303, соответственно.

[0104] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит VH и VL, имеющие аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 236 и 237, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 236 и 392, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 246 и 247, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 256 и 257, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 266 и 267, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 276 и 277, соответственно;
- h) SEQ ID NO: 286 и 287, соответственно; или
- i) SEQ ID NO: 296 и 297, соответственно.

[0105] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 содержит:

a) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 227 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 392 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 246 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 247 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

e) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

f) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 267 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

g) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 276 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 277 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

h) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 286 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 287 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379; или

i) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 296 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 297 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379.

[0106] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-230, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 226;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 231-233, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 227;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 227;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 226, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 227;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 227; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379.

[0107] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 238-240, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 236;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 236 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 241-243, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 237;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 237 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 238-243, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 236, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 237;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 237 и 379.

[0108] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 238-240, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 236;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 236 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 241-243, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 392;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 392;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 392 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 238-243, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 236, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 392;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 392;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 392 и 379.

[0109] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 248-250, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 246;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 246;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 246 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 251-253, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 247;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 247;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 247 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 248-253, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 246, а последовательность VL которого

по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 247;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 246, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 247; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 246 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 247 и 379.

[0110] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 258-260, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 256;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 256 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 261-263, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 257;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 257 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 258-263, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 256, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 257;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 257 и 379.

[0111] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 268-270, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 266;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 266 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 271-273, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 267;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 267;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 267 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 268-273, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 266, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 267;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 267;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 267 и 379.

[0112] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 278-280, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 276;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 276;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 276 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 281-283, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 277;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 277;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 277 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 278-283, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 276, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 277;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 276, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 277;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 276 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 277 и 379.

[0113] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288-290, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 286;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 286;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 286 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 291-293, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 287;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 287;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 287 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288-293, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 286, а последовательность VL которого

по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 287;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 286, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 287; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 286 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 287 и 379.

[0114] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 298-300, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 296;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 296;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 296 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 301-303, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 297;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 297;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 297 и 379;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 298-303, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 296, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 297;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 296, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 297; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 296 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 297 и 379.

[0115] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против PD-1 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с

PD-1 человека с KD по меньшей мере 900, по меньшей мере 850, по меньшей мере 800, по меньшей мере 750, по меньшей мере 700, по меньшей мере 650, по меньшей мере 600, по меньшей мере 550, по меньшей мере 500, по меньшей мере 450, по меньшей мере 400, по меньшей мере 350, по меньшей мере 300, по меньшей мере 250, по меньшей мере 200, по меньшей мере 150, по меньшей мере 100, по меньшей мере 50, по меньшей мере 40, по меньшей мере 30 или по меньшей мере 20 пМ. В некоторых вариантах осуществления KD определяют с использованием поверхностного плазмонного резонанса. В отдельных вариантах осуществления антитела против PD-1 или антигенсвязывающие части связываются с PD-1 человека с более высокой аффинностью, чем ниволумаб, пембролизумаб или и то и другое.

[0116] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против PD-1 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с PD-1 яванского макака с KD по меньшей мере 9000, по меньшей мере 8000, по меньшей мере 7000, по меньшей мере 6000, по меньшей мере 5000, по меньшей мере 4000, по меньшей мере 3000, по меньшей мере 2500, по меньшей мере 2000, по меньшей мере 1500, по меньшей мере 1000, по меньшей мере 900, по меньшей мере 800, по меньшей мере 700, по меньшей мере 600, по меньшей мере 500, по меньшей мере 400, по меньшей мере 300, по меньшей мере 200, по меньшей мере 100, по меньшей мере 75, по меньшей мере 50, по меньшей мере 25, по меньшей мере 20, по меньшей мере 15, по меньшей мере 10 или по меньшей мере 5 пМ. В некоторых вариантах осуществления KD определяют с использованием поверхностного плазмонного резонанса.

[0117] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против PD-1 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с PD-1 мыши с KD по меньшей мере 1000, по меньшей мере 950, по меньшей мере 900 или по меньшей мере 850 пМ. В некоторых вариантах осуществления KD определяют с использованием поверхностного плазмонного резонанса.

[0118] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против PD-1 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может ингибировать взаимодействие PD-1 с PD-L1 по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% в концентрации 10 мкг/мл в конкурентном анализе методом проточной цитометрии. В некоторых вариантах осуществления антитела против PD-1 или антигенсвязывающие части могут ингибировать взаимодействие PD-1 с PD-L1 по меньшей мере на 83%.

[0119] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против PD-1 или

антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может блокировать связывание PD-L1 и PD-L2 с PD-1 по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% в концентрации 10 мкг/мл, что определяют с помощью анализа методом биослойной интерферометрии. В некоторых вариантах осуществления антитела против PD-1 или антигенсвязывающие части блокируют связывание PD-L1 и PD-L2 с PD-1 по меньшей мере на 90%.

[0120] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть, описанная в настоящем документе, имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

- a) связывается с PD-1 человека с KD 750 пМ или менее;
- b) связывается с PD-1 яванского макака с KD 7 нМ или менее;
- c) связывается с PD-1 мыши с KD 1 нМ или менее;
- d) не связывается с PD-1 крысы;
- e) увеличивает секрецию IL-2 в анализе стимулированной SEB цельной крови;
- f) увеличивает секрецию IFN- γ в анализе односторонней реакции смешанной культуры лимфоцитов;
- g) ингибирует взаимодействие PD-1 с PD-L1 по меньшей мере на 60% в концентрации 10 мкг/мл в конкурентном анализе методом проточной цитометрии;
- h) блокирует связывание PD-L1 и PD-L2 с PD-1 по меньшей мере на 90% в концентрации 10 мкг/мл, что определяют с помощью анализа методом биослойной интерферометрии; и
- i) ингибирует рост опухоли *in vivo*.

Примеры такого антитела включают в себя, без ограничения, антитело 12819 (имеющее свойства a-i); антитела 12748, 12892 и 12777 (имеющие по меньшей мере свойства a, b и e-h); антитела 12865 и 12796 (имеющие по меньшей мере свойства a, b, e, f и h) и антитела 12760 и 13112 (имеющие по меньшей мере свойства a, b, e и f). В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть имеет все указанные свойства. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства a, b и e-h. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства a, b, e, f и h. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства a, b, e и f.

[0121] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть, которые описаны в настоящем документе, связывается с

эпитопом PD-1, который содержит по меньшей мере один (например, по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять) следующих остатков SEQ ID NO: 388: V44, V64, L128, P130, K131, A132, E136 и T145. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом PD-1, который содержит остатки V64, L128, P130, K131 и A132 SEQ ID NO: 388 (например, антитело 12819, например, антитело 12819.15384). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом PD-1, который содержит остатки K131 и E136 SEQ ID NO: 388 (например, антитело 12865, например, антитело 12865.15377). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом PD-1, который содержит остатки V44 и T145 SEQ ID NO: 388 (например, антитело 13112, например, антитело 13112.15380).

[0122] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция содержит антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которая связывается с эпитопом PD-1, содержащим аминокислотный остаток K131 SEQ ID NO: 388 (например, антитело 12819 или 12865). В некоторых вариантах осуществления эпитоп дополнительно содержит аминокислотные остатки P130 и A132 и может дополнительно содержать аминокислотные остатки V64 и L128 (например, антитело 12819). В некоторых вариантах осуществления эпитоп дополнительно содержит аминокислотный остаток E136 (например, антитело 12865).

[0123] В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть, которые описаны в настоящем документе, связывается с эпитопом PD-1, который содержит остатки 56-64, 69-90 и/или 122-140 SEQ ID NO: 388. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом PD-1, который содержит остатки 69-90 и 122-140 SEQ ID NO: 388 (например, антитела 12819 и 12865, например, антитела 12819.15384 и 12865.15377). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом PD-1, который содержит остатки 56-64, 69-90 и 122-140 SEQ ID NO: 388 (например, антитело 12819). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом PD-1, который содержит остатки 69-90 и 122-140 SEQ ID NO: 388 (например, антитело 12865). В некоторых вариантах осуществления антитело или его часть связывается с остатками 69-75 (или их фрагментами, например, с фрагментом одного, двух, трех, четырех, пяти или шести остатков), SEQ ID NO: 388 (например, антитела 12819 и 12865, например, антитела 12819.15384 и 12865.15377). В некоторых вариантах осуществления антитело или его часть связывается с остатками 136-140 (или их фрагментами, например, с фрагментом одного, двух, трех или четырех остатков) SEQ ID NO: 388 (например, антитела 12819 и 12865, например, антитела 12819.15384 и 12865.15377). В некоторых вариантах осуществления антитело или его часть связывается с остатками 69-75 (или их фрагментами) и остатками 136-140 (или их фрагментами) SEQ ID NO: 388, (например,

антитела 12819 и 12865, например, антитела 12819.15384 и 12865.15377). Также предусмотрен эпитоп с любой комбинацией приведенных выше остатков.

[0124] В некоторых вариантах осуществления антителом против PD-1 или его антигенсвязывающей частью, которые описаны в настоящем документе, является антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть, описанная в патентной публикации РСТ WO 2017/055547 или в патентной заявке РСТ РСТ/EP2017/079615, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

Антитела против TIM-3

[0125] В отдельном варианте осуществления антителами против TIM-3, раскрытыми в настоящем документе, являются человеческие антитела, полученные от трансгенных крыс, которые способны генерировать антитела с человеческими идиотипами.

[0126] Антитела против TIM-3, раскрытые в настоящем документе, могут быть обозначены либо 5-значным номером, например, «20131», либо 10-значным номером, например, «15086.16837». 10-значные номера с одинаковыми первыми пятью цифрами получают из одного и того же родительского антитела, как в случае антител 15086.15086, 15086.16837, 15086.17145, 15086.17144. Ожидается, что те антитела, которые имеют одинаковые шесть CDR, имеют одинаковые или по существу одинаковые свойства связывания с мишенью. Как будет понятно из последовательностей белков и ДНК, представленных в настоящем документе, варианты 15086.16837, 15086.17145 и 15086.17144 имеют только одно аминокислотное отличие в последовательности VH по сравнению с родительским антителом 15086 («15086.15086»), а именно E, а не Q, в позиции 6, тогда как аминокислотные последовательности VL являются идентичными. Также должно быть понятно, что эти варианты отличаются прежде всего своим форматом/подклассом антитела, т.е.:

15086.15086: IgG1

15086.16837: IgG1 LALA

15086.17145: IgG2

15086.17144: IgG4

Последовательность VH антител подкласса IgG2 и IgG4 такая же как последовательность варианта IgG1 LALA. Последовательность VL одинаковая для всех четырех подклассов антител.

[0127] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция содержит антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, причем антителом против TIM-3 является антитело, упоминаемое в настоящем документе, как антитело 15086.17145, 15086.15086, 15086.16837, 15086.17144, 20131, 20293, 15105, 15107, 15109, 15174, 15175, 15260, 15284, 15299, 15353, 15354, 17244, 17245, 19324, 19416, 19568, 20185, 20300, 20362 или 20621 или вариант любого из них, причем вариант может, например, содержать некоторые минимальные аминокислотные изменения относительно указанного антитела (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10

аминокислотных изменений, которые могут быть, например, в каркасных областях) без потери антигенсвязывающей специфичности антитела.

[0128] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 конкурирует или перекрестно конкурирует с антителом 15086.15086, имеющим формат IgG1, антителом 15086.16837, имеющим формат IgG1 LALA, антителом 15086.17145, имеющим формат IgG2, или антителом 15086.17144, имеющим формат IgG4, за связывание с TIM-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом TIM-3 человека, что и они. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет формат IgG1 или IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет формат IgG2.

[0129] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 конкурирует или перекрестно конкурирует с антителом 20131, 20293, 15105, 15107, 15109, 15174, 15175, 15260, 15284, 15299, 15353, 15354, 17244, 17245, 19324, 19416, 19568, 20185, 20300, 20362 или 20621 за связывание с TIM-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом TIM-3 человека, что и они. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет формат IgG1 или IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет формат IgG2.

[0130] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 конкурирует или перекрестно конкурирует с антителом, CDR1-3 тяжелой цепи (H) и CDR1-3 легкой цепи (L) которого содержат, соответственно, SEQ ID NO: 8-13, 18-23, 28-33, 38-43, 48-53, 58-63, 68-73, 78-83, 88-93, 98-103, 108-113, 118-123, 128-133, 138-143, 148-153, 158-163, 168-173, 178-183, 188-193, 198-203, 208-213 или 218-223, за связывание с TIM-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом TIM-3 человека, что и оно.

[0131] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит H-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность H-CDR3 SEQ ID NO: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210 или 220.

[0132] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит H-CDR1-3, содержащие аминокислотные последовательности H-CDR1-3, соответственно, из SEQ ID NO: 8-10, 18-20, 28-30, 38-40, 48-50, 58-60, 68-70, 78-80, 88-90, 98-100, 108-110, 118-120, 128-130, 138-140, 148-150, 158-160, 168-170, 178-180, 188-190, 198-200, 208-210 или 218-220.

[0133] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VH, аминокислотная последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 3, 7, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216.

[0134] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VH, который содержит SEQ ID NO: 3, 7, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216.

[0135] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VH,

последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 3, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216; и СН, последовательность которой по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 374.

[0136] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет HC, которая содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO: 3, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216 и аминокислотную последовательность CH SEQ ID NO: 374.

[0137] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VH, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 7, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216; и СН, последовательность которой по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 375, 376 или 377.

[0138] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет HC, которая содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO: 7, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216 и аминокислотную последовательность CH SEQ ID NO: 375, 376 или 377. В некоторых вариантах осуществления аминокислотной последовательностью СН является SEQ ID NO: 377.

[0139] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит L-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность L-CDR3 SEQ ID NO: 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103, 113, 123, 133, 143, 153, 163, 173, 183, 193, 203, 213 или 223.

[0140] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит L-CDR1-3, содержащие аминокислотные последовательности L-CDR1-3, соответственно, SEQ ID NO: 11-13, 21-23, 31-33, 41-43, 51-53, 61-63, 71-73, 81-83, 91-93, 101-103, 111-113, 121-123, 131-133, 141-143, 151-153, 161-163, 171-173, 181-183, 191-193, 201-203, 211-213 или 221-223.

[0141] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности VL SEQ ID NO: 4, 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207 или 217.

[0142] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VL, который содержит аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 4, 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207 или 217.

[0143] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности VL SEQ ID NO: 4, 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207 или 217; и CL, последовательность которой по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 378.

[0144] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет LC, которая содержит аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 4, 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207 или 217 и аминокислотную последовательность CL SEQ ID NO: 378.

[0145] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит любую из приведенных выше последовательностей тяжелой цепи и любую из приведенных выше последовательностей легкой цепи.

[0146] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит H-CDR3 и L-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности H-CDR3 и L-CDR3, соответственно, из SEQ ID NO: 10 и 13, 20 и 23, 30 и 33, 40 и 43, 50 и 53, 60 и 63, 70 и 73, 80 и 83, 90 и 93, 100 и 103, 110 и 113, 120 и 123, 130 и 133, 140 и 143, 150 и 153, 160 и 163, 170 и 173, 180 и 183, 190 и 193, 200 и 203, 210 и 213 или 220 и 223.

[0147] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит H-CDR1-3 и L-CDR1-3, содержащие последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3, соответственно, из SEQ ID NO: 8-13, 18-23, 28-33, 38-43, 48-53, 58-63, 68-73, 78-83, 88-93, 98-103, 108-113, 118-123, 128-133, 138-143, 148-153, 158-163, 168-173, 178-183, 188-193, 198-203, 208-213 или 218-223.

[0148] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VH, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3, 7, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216, и VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4, 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207 или 217.

[0149] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет VH,

который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, 7, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216, и VL, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207 или 217.

[0150] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 имеет HC, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3, 7, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206 или 216 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378; и LC, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4, 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207 или 217 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377.

[0151] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 из:

- a) SEQ ID NO: 8-13, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 18-23, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 28-33, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 38-43, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 48-53, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 58-63, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 68-73, соответственно;
- h) SEQ ID NO: 78-83, соответственно;
- i) SEQ ID NO: 88-93, соответственно;
- j) SEQ ID NO: 98-103, соответственно;
- k) SEQ ID NO: 108-113, соответственно;
- l) SEQ ID NO: 118-123, соответственно;
- m) SEQ ID NO: 128-133, соответственно;
- n) SEQ ID NO: 138-143, соответственно;
- o) SEQ ID NO: 148-153, соответственно;
- p) SEQ ID NO: 158-163, соответственно;
- q) SEQ ID NO: 168-173, соответственно;
- r) SEQ ID NO: 178-183, соответственно;
- s) SEQ ID NO: 188-193, соответственно;
- t) SEQ ID NO: 198-203, соответственно;
- u) SEQ ID NO: 208-213, соответственно; или
- v) SEQ ID NO: 218-223, соответственно.

[0152] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, имеющие аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно;

- c) SEQ ID NO: 16 и 17, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 36 и 37, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 46 и 47, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 56 и 57, соответственно;
- h) SEQ ID NO: 66 и 67, соответственно;
- i) SEQ ID NO: 76 и 77, соответственно;
- j) SEQ ID NO: 86 и 87, соответственно;
- k) SEQ ID NO: 96 и 97, соответственно;
- l) SEQ ID NO: 106 и 107, соответственно;
- m) SEQ ID NO: 116 и 117, соответственно;
- n) SEQ ID NO: 126 и 127, соответственно;
- o) SEQ ID NO: 136 и 137, соответственно;
- p) SEQ ID NO: 146 и 147, соответственно;
- q) SEQ ID NO: 156 и 157, соответственно;
- r) SEQ ID NO: 166 и 167, соответственно;
- s) SEQ ID NO: 176 и 177, соответственно;
- t) SEQ ID NO: 186 и 187, соответственно;
- u) SEQ ID NO: 196 и 197, соответственно;
- v) SEQ ID NO: 206 и 207, соответственно; или
- w) SEQ ID NO: 216 и 217, соответственно.

[0153] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит:

a) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

e) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

p) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

q) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

r) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

s) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 177 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

t) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 186 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 187 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

u) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 196 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 197 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

v) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 207 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378; или

w) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 216 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 217 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378.

[0154] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-10, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3 или 7;

с) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или 7;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3 и 374 или аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, 376 или 377;

е) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 11-13, соответственно;

ф) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-13, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3 или 7, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или 15, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 3 и 374 или аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378.

[0155] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-20, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16;

с) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

е) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 21-23, соответственно;

ф) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 17 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 18-23, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 16, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 17;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 17 и 378.

[0156] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28-30, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 26;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 26 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 31-33, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 27;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 28-33, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 26, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 27;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID

NO: 26 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 27 и 378.

[0157] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38-40, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 36;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 36 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 41-43, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 37;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 37 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 38-43, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 36, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 37;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 37; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 37 и 378.

[0158] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 48-50, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 46 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

е) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 51-53, соответственно;

ф) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 47;

г) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 47 и 378;

и) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 48-53, соответственно;

ж) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 46, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 47;

к) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 47 и 378.

[0159] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

а) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 58-60, соответственно;

б) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56;

с) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56;

д) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 56 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

е) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 61-63, соответственно;

ф) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 57;

г) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 57 и 378;

и) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 58-63, соответственно;

ж) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 56, а последовательность VL которого

по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 57;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 57; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 56 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 57 и 378.

[0160] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 68-70, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 66 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 71-73, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 67;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 67 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 68-73, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 67;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 67; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 67 и 378.

[0161] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 78-80, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76;

с) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 76 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 81-83, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 77 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 78-83, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 76, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 77;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 77; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 76 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 77 и 378.

[0162] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 88-90, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 86 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 91-93, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 87;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 87 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 88-93, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 86, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 87;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 87 и 378.

[0163] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 98-100, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 96;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 96 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 101-103, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 97;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 97 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 98-103, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 96, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 97;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 97; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 96 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 97 и 378.

[0164] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 108-110, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 106;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 106 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 111-113, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 107;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 107 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 108-113, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 106, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 107;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 107;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 107 и 378.

[0165] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 118-120, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 116;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 116 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 121-123, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 117;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 117 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 118-123, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 116, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 117;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 117;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 116 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 117 и 378.

[0166] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 128-130, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 126;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 126 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 131-133, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 127;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 127 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 128-133, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 126, а последовательность VL которого

по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 127;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 127 и 378.

[0167] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 138-140, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 136;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 136;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 136 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 141-143, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 137;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 137 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 138-143, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 136, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 137;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 136, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 137 и 378.

[0168] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 148-150, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 146 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 151-153, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 147;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 147 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 148-53, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 146, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 147;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 147 и 378.

[0169] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 158-160, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 156;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 156 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 161-163, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 157;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 157 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 158-163, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 156, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 157;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 157 и 378.

[0170] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 168-170, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 166;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 166 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 171-173, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 167;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 167 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 168-173, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 166, а последовательность VL которого

по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 167;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 167 и 378.

[0171] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178-80, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 176;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 176 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 181-183, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 177;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 177;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 177 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 178-183, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 176, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 177;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 177; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 177 и 378.

[0172] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 188-190, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 186;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 186;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 186 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 191-193, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 187;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 187;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 187 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 188-193, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 186, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 187;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 186, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 187;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 186 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 187 и 378.

[0173] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 198-200, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 196;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 196;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 196 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 201-203, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 197;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 197;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 197 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 198-203, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 196, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 197;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 196, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 197;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 196 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 197 и 378.

[0174] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 208-210, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 206;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 206 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 211-213, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 207;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 207;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 207 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 208-213, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 206, а последовательность VL которого

по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 207;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 207; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 207 и 378.

[0175] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 218-220, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 216;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 216;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 216 и SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 221-223, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 217;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 217;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 217 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 218-223, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 216, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 217;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 216, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 217; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 216 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 217 и 378.

[0176] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против TIM-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может ингибировать

связывание с TIM-3 таких лигандов как галектин-9, CEACAM1, HMGB-1 и фосфатидилсерин.

[0177] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против TIM-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может увеличивать активность NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления эта активность может опосредовать ADCC.

[0178] В некоторых вариантах осуществления введение антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части, которые описаны в настоящем документе, может активировать дендритные клетки, вызывая их созревание и, следовательно, их способность стимулировать Т-клетки. Не желая связывать себя какой-либо конкретной теорией, полагают, что антитела против TIM-3, описанные в настоящем документе, функционируют в качестве активаторов дендритных клеток, экспрессирующих TIM-3, в связи с чем их воздействие на дендритные клетки служит для стимуляции Т-клеток. Таким образом, в связанных с опухолью условиях антитела против TIM-3 будут вызывать созревание и активацию ассоциированных с опухолью дендритных клеток, что приводит к активации опухольспецифических Т-клеток.

[0179] В некоторых вариантах осуществления введение антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части, которые описаны в настоящем документе, может непосредственно активировать Т-клетки.

[0180] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть, описанная в настоящем документе, имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

- a) связывается с TIM-3 человека с KD 23 нМ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;
- b) связывается с TIM-3 яванского макака с KD 22 нМ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;
- c) связывается с TIM-3 человека с EC50 1,2 нМ или менее, что измеряют с помощью ELISA;
- d) связывается с TIM-3 яванского макака с EC50 46 нМ или менее, что измеряют с помощью ELISA;
- e) увеличивает секрецию IFN- γ в анализе однонаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов;
- f) увеличивает секрецию IFN- γ в анализе двунаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов;
- g) увеличивает секрецию TNF- α в анализе однонаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов;
- h) увеличивает секрецию TNF- α из дендритных клеток; и
- i) ингибирует взаимодействие TIM-3 с фосфатидилсерином.

Примеры такого антитела включают в себя, без ограничения, антитело 15086.15086 (имеющее по меньшей мере свойства a, c, d, e, g и h); антитело 15086.17145 (имеющее по

меньшей мере свойства a, c, d, e, g, h и i), антитело 15086.16837 или 15086.17144 (имеющее по меньшей мере свойства a, c и d), антитело 20293 или 20131 (имеющее по меньшей мере свойства a, b, c, d, e, f и h), антитело 20362 (имеющее по меньшей мере свойства c, e, f и h) и антитело 19324, 19416, 19568, 20185, 20300 или 20621 (имеющее по меньшей мере свойства c, d, e, f и h). В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть имеет все указанные свойства. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства a, c, d, e, g и h. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства a, c, d, e, g, h и i. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства a, c и d. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства a, b, c, d, e, f и h. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства c, e, f и h. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть имеет по меньшей мере свойства c, d, e, f и h.

[0181] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающая часть, которые описаны в настоящем документе, связывается с эпитопом TIM-3, который содержит по меньшей мере один (например, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь или по меньшей мере девять) следующих остатков SEQ ID NO: 389: P50, V60, F61, E62, G64, R69, I117, M118 и D120. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом TIM-3, который содержит остатки P50, V60, F61, E62, G64, R69, I117, M118 и D120 SEQ ID NO: 389 (например, антитело 15086.15086, 15086.16837, 15086.17145 или 15086.17144). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом TIM-3, который содержит остатки F61, R69 и I117 SEQ ID NO: 389 (например, антитело 20293). В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом TIM-3, который содержит остатки P50, F61, E62, I117, M118 и D120 SEQ ID NO: 389 (например, антитело 20131).

[0182] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающая часть связывается с эпитопом TIM-3, содержащим аминокислотные остатки F61 и I117 SEQ ID NO: 389 (например, антитело 15086.15086, 15086.16837, 15086.17145, 15086.17144, 20293 или 20131). В некоторых вариантах осуществления эпитоп дополнительно содержит аминокислотный остаток R69 (например, антитело 15086.15086, 15086.16837, 15086.17145, 15086.17144 или 20293). В некоторых вариантах осуществления эпитоп дополнительно содержит P50, E62, M118 и D120 (например, антитело 15086.15086, 15086.16837, 15086.17145, 15086.17144 или 20131) и может дополнительно содержать аминокислотные остатки V60 и G64 (например, антитело

15086.15086, 15086.16837, 15086.17145 или 15086.17144).

[0183] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающая часть, которые описаны в настоящем документе, связывается с эпитопом TIM-3, который содержит по меньшей мере один (например, по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь или по меньшей мере девять) следующих остатков SEQ ID NO: 236: P50, V60, F61, E62, G64, R69, I117, M118 и D120. Предусмотрен эпитоп с любой комбинацией приведенных выше остатков.

[0184] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающая часть, которые описаны в настоящем документе, связывается с эпитопом TIM-3, который содержит остатки 62-67 и/или 114-117 SEQ ID NO: 389. В некоторых вариантах осуществления антитело или его часть связывается с остатками 62-67 (или их фрагментами, например, с фрагментом одного, двух, трех, четырех или пяти остатков) SEQ ID NO: 389 (например, антитела 15086.15086, 15086.16837, 15086.17145, 15086.17144 и 20293). В некоторых вариантах осуществления антитело или его часть связывается с остатками 114-117 (или их фрагментами, например, с фрагментом одного, двух или трех остатков) SEQ ID NO: 389 (например, антитело 20131). Также предусмотрен эпитоп с любой комбинацией приведенных выше остатков.

[0185] В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающая часть не конкурирует с АВТІМ3 (из РСТ патентной публикации WO 2015/117002) и/или mAb15 (из РСТ патентной публикации WO 2016/111947) за связывание с TIM-3. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть не связывается с тем же самым эпитопом, что и АВТІМ3 и/или mAb15; например, антитело или его часть связывается с одним или более остатками на TIM-3, которые не связаны АВТІМ3 и/или mAb15.

[0186] В некоторых вариантах осуществления антителом против TIM-3 или его антигенсвязывающей частью, которые описаны в настоящем документе, является антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть, описанная в патентной публикации РСТ WO 2017/178493, которая полностью включена посредством ссылки в настоящий документ.

Антитела против LAG-3

[0187] В некоторых вариантах осуществления антителами против LAG-3, раскрытыми в настоящем документе, являются человеческие антитела, полученные от трансгенных крыс, которые способны генерировать антитела с человеческими идиотипами. В другом варианте осуществления антителами являются полученные от курицы химерные антитела, содержащие последовательности CDR курицы и каркасные области человека, причем каркасные области были подвергнуты гуманизации.

[0058] Одно преимущество новых антител против LAG-3, описанных в настоящем документе, состоит в том, что они способны усиливать активность Т-клеток, что измеряют

с помощью увеличенной выработки IL-2. Не желая связывать себя какой-либо конкретной теорией, полагают, что антитела против LAG-3 способны блокировать взаимодействие LAG-3 с его предполагаемыми лигандами, такими как MHCII и LSECtin. Антитела могут выполнять это непосредственно путем блокирования области связывания лиганда или путем стимулирования интернализации LAG-3. Еще одно потенциальное преимущество антител против LAG-3, описанных в настоящем документе, состоит в низком уровне вторичных эффекторных функций в антителах, имеющих мутации «LALA» (L234A/L235A), которые препятствуют значимому связыванию антитела с FcγR (Fc-рецепторы гамма) человека и, следовательно, истощению эффекторных Т-клеток.

[0188] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция содержит антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, причем антителом против LAG-3 является антитело, упоминаемое в настоящем документе, как антитело 15646, 15532, 15723, 15595, 15431, 15572 или 15011 или вариант любого из них, причем вариант может, например, содержать некоторые минимальные аминокислотные изменения относительно указанного антитела (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислотных изменений, которые могут быть, например, в каркасных областях) без потери антигенсвязывающей специфичности антитела.

[0189] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающая часть конкурирует или перекрестно конкурирует с антителом 15646, 15532, 15723, 15595, 15431, 15572 или 15011 за связывание с LAG-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом LAG-3 человека, что и оно. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет формат IgG1 или IgG2. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет формат IgG2.

[0190] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 конкурирует или перекрестно конкурирует с антителом, CDR1-3 тяжелой цепи (H) и CDR1-3 легкой цепи (L) которого содержат, соответственно, SEQ ID NO: 308-313, 318-323, 328-333, 338-343, 348-353, 358-363 или 368-373, за связывание с LAG-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом LAG-3 человека, что и оно.

[0191] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит H-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность H-CDR3 SEQ ID NO: 310, 320, 330, 340, 350, 360 или 370.

[0192] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит H-CDR1-3, содержащие аминокислотные последовательности H-CDR1-3, соответственно, из SEQ ID NO: 308-310, 318-320, 328-330, 338-340, 348-350, 358-360 или 368-370.

[0193] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет VH, аминокислотная последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 306, 316, 326, 336, 346, 356 или 366.

[0194] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет VH,

который содержит SEQ ID NO: 306, 316, 326, 336, 346, 356 или 366.

[0195] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет VH, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 306, 316, 326, 336, 346, 356 или 366; и CH, последовательность которой по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 375.

[0196] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет HC, которая содержит аминокислотную последовательность VH SEQ ID NO: 306, 316, 326, 336, 346, 356 или 366 и аминокислотную последовательность CH SEQ ID NO: 375.

[0197] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит L-CDR3, содержащую аминокислотную последовательность L-CDR3 SEQ ID NO: 313, 323, 333, 343, 353, 363 или 373.

[0198] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит L-CDR1-3, содержащие аминокислотные последовательности L-CDR1-3, соответственно, SEQ ID NO: 311-313, 321-323, 331-333, 341-343, 351-353, 361-363 или 371-373.

[0199] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности VL SEQ ID NO: 307, 317, 327, 337, 347, 357 или 367.

[0200] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет VL, который содержит аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 307, 317, 327, 337, 347, 357 или 367.

[0201] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности VL SEQ ID NO: 307, 317, 327, 337, 347 или 357; и CL, последовательность которой по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична SEQ ID NO: 378.

[0202] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет LC, которая содержит аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 307, 317, 327, 337, 347 или 357 и аминокислотную последовательность CL SEQ ID NO: 378. В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет LC, которая содержит аминокислотную последовательность VL SEQ ID NO: 367 и аминокислотную последовательность CL SEQ ID NO: 379.

[0203] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит любую из приведенных выше последовательностей тяжелой цепи и любую из приведенных выше последовательностей легкой цепи.

[0204] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит H-CDR3 и L-CDR3, содержащие аминокислотные последовательности H-CDR3 и L-CDR3, соответственно, из SEQ ID NO: 310 и 313, 320 и 323, 330 и 333, 340 и 343, 350 и 353, 360 и 363 или 370 и 373.

[0205] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит H-CDR1-3 и L-CDR1-3, содержащие последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3, соответственно, из SEQ ID NO: 308-313, 318-323, 328-333, 338-343, 348-353, 358-363 или 368-373.

[0206] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет VH, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 306, 316, 326, 336, 346, 356 или 366, и VL, последовательность которого по меньшей мере на 90% (например, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99%) идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 307, 317, 327, 337, 347, 357 или 367.

[0207] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет VH, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306, 316, 326, 336, 346, 356 или 366, и VL, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 307, 317, 327, 337, 347, 357 или 367.

[0208] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет HC, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306, 316, 326, 336, 346, 356 или 366 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; и LC, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 307, 317, 327, 337, 347 или 357 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378.

[0209] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 имеет HC, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306, 316, 326, 336, 346, 356 или 366 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375; и LC, которая содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379.

[0210] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 из:

- a) SEQ ID NO: 308-313, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 318-323, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 328-333, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 338-343, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 348-353, соответственно;

f) SEQ ID NO: 358-363, соответственно; или

g) SEQ ID NO: 368-373, соответственно.

[0211] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит переменный домен тяжелой цепи и переменный домен легкой цепи, имеющие аминокислотные последовательности из:

a) SEQ ID NO: 306 и 307, соответственно;

b) SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно;

c) SEQ ID NO: 326 и 327, соответственно;

d) SEQ ID NO: 336 и 337, соответственно;

e) SEQ ID NO: 346 и 347, соответственно;

f) SEQ ID NO: 356 и 357, соответственно; или

g) SEQ ID NO: 366 и 367, соответственно.

[0212] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 содержит:

a) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 307 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 316 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 317 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 326 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 327 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 336 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 337 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

e) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 346 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 347 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

f) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 356 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 357 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378; или

g) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 366 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367 и аминокислотную

последовательность SEQ ID NO: 379.

[0213] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 308-310, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 306;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 306 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 311-313, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 307;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 307;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 307 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 308-313, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 306, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 307;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 307;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 306 и 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 307 и 378.

[0214] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 318-320, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 316;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 316;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID

NO: 316 и 375;

е) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 321-323, соответственно;

ф) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 317;

г) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 317;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378;

и) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

ж) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 316, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 317;

к) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 316, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 317;
и

л) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

[0215] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 выбирают из группы, состоящей из:

а) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 328-330, соответственно;

б) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 326;

с) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 326;

д) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 326 и 375;

е) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 331-333, соответственно;

ф) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 327;

г) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 327;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 327 и 378;

и) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 328-333, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 326, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 327;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 326, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 327;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 326 и 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 327 и 378.

[0216] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 338-340, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 336;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 336;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 336 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 341-343, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 337;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 337;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 337 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 338-343, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 336, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 337;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 336, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 337;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 336 и 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO:

337 и 378.

[0217] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 348-350, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 346;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 346;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 346 и 375;

e) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 351-353, соответственно;

f) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 347;

g) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 347;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 347 и 378;

i) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 348-353, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 346, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 347;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 346, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 347;
и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 346 и 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 347 и 378.

[0218] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 выбирают из группы, состоящей из:

a) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 358-360, соответственно;

b) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 356;

c) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 356;

d) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID

NO: 356 и 375;

е) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 361-363, соответственно;

ф) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 357;

г) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 357;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 357 и 378;

и) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 358-363, соответственно;

ж) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 356, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 357;

к) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 356, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 357; и

л) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 356 и 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 357 и 378.

[0219] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 выбирают из группы, состоящей из:

а) антитела, H-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 368-370, соответственно;

б) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 366;

в) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 366;

д) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 366 и 375;

е) антитела, L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 371-373, соответственно;

ф) антитела, последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 367;

г) антитела, VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367;

h) антитела, LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 367 и 379;

и) антитела, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 368-373, соответственно;

j) антитела, последовательность VH которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 366, а последовательность VL которого по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 367;

k) антитела, VH которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 366, а VL которого содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367; и

l) антитела, HC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 366 и 375; а LC которого содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 367 и 379.

[0220] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 человека с EC50, например, 0,2 нМ или менее, 0,15 нМ или менее, 0,1 нМ или менее, 0,09 нМ или менее, 0,08 нМ или менее, 0,07 нМ или менее, 0,06 нМ или менее, 0,05 нМ или менее или 0,04 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 яванского макака, например, с EC50 0,4 нМ или менее, 0,3 нМ или менее, 0,2 нМ или менее, 0,1 нМ или менее, 0,09 нМ или менее, 0,08 нМ или менее, 0,07 нМ или менее, 0,06 нМ или менее, 0,05 нМ или менее, 0,04 нМ или менее или 0,03 нМ или менее. В отдельных вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 человека, например, с EC50 0,1 нМ или менее и LAG-3 яванского макака, например, с EC50 0,3 нМ или менее.

[0221] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 человека с EC50, например, 0,1 нМ или менее. В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 яванского макака, например, с EC50 0,3 нМ или менее. В отдельных вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 человека, например, с EC50 0,1 нМ или менее и LAG-3 яванского макака, например, с EC50 0,3 нМ или менее.

[0222] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может ингибировать связывание таких лигандов как МНС II класса (МНСII) или LSECtin с LAG-3. Например, при 20 мкг/мл антитело против LAG-3 или антигенсвязывающая часть может снизить связывание LAG-3 с МНСII по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на

75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% по сравнению со связыванием в присутствии антитела отрицательного контроля. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 или антигенсвязывающий белок может снизить связывание LAG-3 с МНСII более чем на 85% по сравнению с отрицательным контролем. В одном варианте осуществления антитело против LAG-3 или антигенсвязывающий белок может снизить связывание LAG-3 с МНСII приблизительно на 25%-95%, 30%-90% или 35%-85% по сравнению с отрицательным контролем.

[0223] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может блокировать связывание между LAG-3 и МНС II класса, например, LAG-3 человека, экспрессируемым в клетках Jurkat, и МНС II класса человека, экспрессируемым в клетках Raji (например, в концентрации 0,1 мкг/мл, 0,5 мкг/мл, 1 мкг/мл, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл, 20 мкг/мл, 30 мкг/мл, 40 мкг/мл или 50 мкг/мл).

[0224] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 человека с $KD 5,0 \times 10^{-8}$ или менее, $4,0 \times 10^{-8}$ или менее, $3,0 \times 10^{-8}$ или менее, $2,0 \times 10^{-8}$ или менее, $1,0 \times 10^{-8}$ или менее, $9,0 \times 10^{-9}$ или менее, $8,0 \times 10^{-9}$ или менее, $7,0 \times 10^{-9}$ или менее, $6,0 \times 10^{-9}$ или менее, $5,0 \times 10^{-9}$ или менее, $4,0 \times 10^{-9}$ или менее, $3,0 \times 10^{-9}$ или менее, $2,0 \times 10^{-9}$ или менее или $1,0 \times 10^{-9}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

[0225] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 яванского макака с $KD 1,5 \times 10^{-7}$ или менее, $1,0 \times 10^{-7}$ или менее, $9,0 \times 10^{-8}$ или менее, $8,0 \times 10^{-8}$ или менее, $7,0 \times 10^{-8}$ или менее, $6,0 \times 10^{-8}$ или менее, $5,0 \times 10^{-8}$ или менее, $4,0 \times 10^{-8}$ или менее, $3,0 \times 10^{-8}$ или менее, $2,0 \times 10^{-8}$ или менее или $1,0 \times 10^{-8}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

[0226] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с LAG-3 мыши с $KD 5,0 \times 10^{-8}$ или менее, $4,5 \times 10^{-8}$ или менее, $4,0 \times 10^{-8}$ или менее, $3,5 \times 10^{-8}$ или менее или $3,0 \times 10^{-8}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

[0227] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может стимулировать выработку IL-2, например, из стимулированных SEB PBMC.

[0228] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может снизить клеточные и/или растворимые уровни LAG-3, например, в Т-клеточной линии человека

(такой как Т-клеточная линия человека сверхэкспрессирующая LAG-3).

[0229] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может индуцировать регресс роста опухоли и/или задерживать рост опухоли *in vivo*.

[0230] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может связываться с другим эпитопом LAG-3 человека, чем антитело 25F7-Lag3.5.

[0231] В некоторых вариантах осуществления любое из антител против LAG-3 или антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, может активировать Т-клетки, вызывая усиленную противоопухолевую активность.

[0232] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 или антигенсвязывающая часть, описанная в настоящем документе, имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

a) в концентрации 20 мкг/мл уменьшает связывание LAG-3 человека с МНС II класса человека в клетках A375 более чем на 85% по сравнению с антителом отрицательного контроля, что определяют с помощью конкурентного анализа методом проточной цитометрии;

b) в концентрации 20 мкг/мл уменьшает связывание LAG-3 человека с МНС II класса человека в клетках A375 до 35%-85% по сравнению с антителом отрицательного контроля, что определяют с помощью конкурентного анализа методом проточной цитометрии;

c) блокирует связывание между LAG-3 человека, экспрессируемым в клетках Jurkat, и МНС II класса человека, экспрессируемым в клетках Raji;

d) связывается с LAG-3 человека с EC50 0,1 нМ или менее, что измеряют с помощью проточной цитометрии;

e) связывается с LAG-3 яванского макака с EC50 0,3 нМ или менее, что измеряют с помощью проточной цитометрии;

f) связывается с LAG-3 человека с KD $3,0 \times 10^{-8}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

g) связывается с LAG-3 яванского макака с KD $1,5 \times 10^{-7}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

h) связывается с LAG-3 мыши с KD $3,5 \times 10^{-8}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

i) стимулирует выработку IL-2 в обработанных стафилококковым энтеротоксином В (SEB) мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMC);

j) уменьшает клеточные уровни LAG-3 в Т-клетках человека;

k) уменьшает растворимые уровни LAG-3 в культуре Т-клеток человека;

l) индуцирует регресс роста опухоли *in vivo*;

m) задерживает рост опухоли *in vivo*; и

n) не связывается с тем же самым эпитопом LAG-3 человека, что и антитело 25F7-

Lag3.5.

Примеры такого антитела включают в себя, без ограничения, антитело 15646 (имеющее по меньшей мере свойства b, c, d, e, i и n), антитело 15532 (имеющее по меньшей мере свойства a, c, d, e, f, g, i, j, k, m и n), антитело 15723 (имеющее по меньшей мере свойства b, c, d, e, i и n), антитело 15595 (имеющее по меньшей мере свойства a, c, d, e, i и n), антитело 15431 (имеющее по меньшей мере свойства a, c, d, e, f, g, i и n), антитело 15572 (имеющее по меньшей мере свойства b, c, d, e, f, g, i и n), и антитело 15011 (имеющее по меньшей мере свойства a, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m и n). В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть согласно изобретению имеет по меньшей мере 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 из указанных свойств. В некоторых вариантах осуществления антитело против TIM-3 или антигенсвязывающая часть согласно изобретению имеет по меньшей мере свойства b, c, d, e, i и n; по меньшей мере свойства a, c, d, e, f, g, i, j, k, m и n; по меньшей мере свойства a, c, d, e, i и n; по меньшей мере свойства a, c, d, e, f, g, i и n; по меньшей мере свойства b, c, d, e, f, g, i и n; или по меньшей мере свойства a, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m и n.

[0233] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 или антигенсвязывающая часть согласно изобретению конкурирует с антителом 15011, 15572 и/или 15431 за связывание с LAG-3 человека.

[0234] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 или антигенсвязывающая часть согласно изобретению связывается с эпитопом LAG-3 человека, имеющим:

- a) аминокислотные остатки H85, P86, A87, P89, S91, W92 и G93 SEQ ID NO: 68;
- b) аминокислотные остатки A40, Q41, P43, P46, P49, D52, T62, Q64, H65, Q66, P67, D68, G93, P94, P96, R98, Y99, T100, V101, P106, G107, R119, E124, R129, G130, D131, S133, R137, P138, D143, R148 и R163 SEQ ID NO: 68;
- c) аминокислотные остатки A40, Q41, P43, P46, P49, D52, T62, Q64, H65, Q66, P67, D68, P96, Y99, T100, V101, P106, G107, R119, E124, R129, G130, D131, S133, R137, P138, D143, R148 и R163 SEQ ID NO: 68; или
- d) аминокислотные остатки G107, L109, R110 и S111 SEQ ID NO: 68.

[0235] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 или антигенсвязывающая часть согласно изобретению связывается с эпитопом, имеющим аминокислотные остатки 98-105 SEQ ID NO: 68. Примеры такого антитела включают в себя, без ограничения, антитела 15532, 15431, 15572 и 15011.

[0236] В некоторых вариантах осуществления антитело против LAG-3 или антигенсвязывающая часть согласно изобретению связывается с эпитопом, имеющим:

- a) аминокислотные остатки 78-105 и 123-131 SEQ ID NO: 68;
 - b) аминокислотные остатки 23-30, 40-66, 88-105, 123-137 и 148-152 SEQ ID NO: 68;
- или
- c) аминокислотные остатки 23-30, 40-66, 98-105, 118-137 и 148-161 SEQ ID NO: 68

[0237] В некоторых вариантах осуществления антителом против LAG-3 или его

антигенсвязывающей частью, которые описаны в настоящем документе, является антитело против LAG-3 или антигенсвязывающая часть, описанная в патентной заявке РСТ РСТ/EP2017/076188, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

[0238] Класс антитела, описанного в настоящем документе, можно изменить или переключить на другой класс или подкласс. В одном аспекте молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую VL или VH, выделяют с использованием способов, хорошо известных в данной области, таким образом, чтобы она не содержала последовательностей нуклеиновых кислот, кодирующих CL или CH. Затем молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие VL или VH, функционально связывают с последовательностью нуклеиновой кислоты, кодирующей CL или CH, соответственно, из молекулы иммуноглобулина другого класса. Это можно обеспечить с использованием вектора или молекулы нуклеиновой кислоты, которая содержит цепь CL или CH, которая описана выше. Например, антитело, которое изначально было IgM, можно переключить на класс IgG. Кроме того, переключение класса можно использовать для преобразования одного подкласса IgG на другой, например, с IgG1 на IgG2. Константную область легкой цепи можно изменить, например, на константную область легкой цепи λ . Предпочтительный способ получения антитела, которое описано в настоящем документе, с нужным изотипом Ig включает стадии выделения молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела, и молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей легкую цепь антитела, получения варибельного домена тяжелой цепи, лигирования варибельного домена тяжелой цепи с константной областью тяжелой цепи нужного изотипа, экспрессии легкой цепи и лигированной тяжелой цепи в клетке и сбора антител с нужным изотипом.

[0239] Антитело, описанное в настоящем документе, может представлять собой молекулу IgG, IgM, IgE, IgA или IgD, но обычно относится к изотипу IgG, например, к IgG подкласса IgG1, IgG2a или IgG2b, IgG3 или IgG4. В одном варианте осуществления антитело относится к IgG1. В другом варианте осуществления антитело относится к IgG2.

[0240] В одном варианте осуществления антитело может содержать по меньшей мере одну мутацию в области Fc. известно число разных мутаций Fc, где эти мутации обеспечивают измененную эффекторную функцию. Например, во многих случаях будет необходимо снизить или устранить эффекторную функцию, например, когда взаимодействия лиганд/рецептор нежелательны или в случае конъюгатов антитело-лекарственное средство.

[0241] В одном варианте осуществления антитело содержит по меньшей мере одну мутацию в Fc области, которая уменьшает эффекторную функцию. Позиции аминокислот Fc области, которые можно предпочтительно подвергнуть мутации, чтобы снизить эффекторную функцию, включают в себя одну или более позиций 228, 233, 234 и 235, где аминокислотные позиции имеют номера согласно схеме нумерации IMGT®.

[0242] В некоторых вариантах осуществления один или оба аминокислотных остатков в позициях 234 и 235 можно подвергнуть мутации, например, из Leu в Ala

(L234A/L235A). Эти мутации снижают эффекторную функцию Fc области IgG1 антител. Дополнительно или альтернативно, аминокислотный остаток в позиции 228 можно подвергнуть мутации, например, в Pro. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток в позиции 233 можно подвергнуть мутации, например, в Pro, аминокислотный остаток в позиции 234 можно подвергнуть мутации, например, в Val, и/или аминокислотный остаток в позиции 235 можно подвергнуть мутации, например, в Ala. Аминокислотные позиции имеют номера согласно схеме нумерации IMGT®.

[0243] В некоторых вариантах осуществления, где антитело относится к подклассу IgG4, оно может содержать мутацию S228P, т.е. иметь пролин в позиции 228, где аминокислотная позиция имеет номер согласно Eu схеме нумерации IMGT®. Известно, что эта мутация уменьшает нежелательный обмен Fab-фрагментами (Angal et al. *Mol Immunol.* 30:105-8 (1993)).

[0244] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающая часть, которые описаны в настоящем документе, могут быть частью более крупной молекулы иммуноадгезии, образованной ковалентной или нековалентной связью антитела или части антитела с одним или более другими белками или пептидами. Примеры подобной молекулы иммуноадгезии включают в себя применение коровой области стрептавидина для получения тетрамерной молекулы scFv (Kipriyanov et al. *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101 (1995)) и применение остатка цистеина, маркерного пептида и С-концевой полигистидиновой метки для получения бивалентной и биотинилированной молекулы scFv (Kipriyanov et al. *Mol. Immunol.* 31:1047-1058 (1994)). Другие примеры включают в себя, когда одну или более CDR из антитела либо ковалентно, либо нековалентно включают в молекулу, чтобы сделать ее иммуноадгезином, который специфически связывается с интересующим антигеном. В таких вариантах осуществления CDR можно встраивать как часть более крупной полипептидной цепи, можно ковалентно связывать с другой полипептидной цепью или можно нековалентно встраивать.

[0245] В другом варианте осуществления можно получить антитело слияния или иммуноадгезин, который содержит все или часть антитела, описанного в настоящем документе, связанное с другим полипептидом. В некоторых вариантах осуществления с полипептидом связывают только вариабельные домены антитела. В некоторых вариантах осуществления домен VH антитела связывают с первым полипептидом, тогда как домен VL антитела связывают со вторым полипептидом, который связывают с первым полипептидом таким образом, чтобы домены VH и VL могли взаимодействовать друг с другом с образованием антигенсвязывающего сайта. В другом предпочтительном варианте осуществления домен VH отделен от домена VL линкером таким образом, чтобы домены VH и VL могли взаимодействовать друг с другом (например, одноцепочечные антитела). Затем антитело VH-линкер-VL связывают с интересующим полипептидом. Кроме того, можно получать антитела слияния, в которых два (или более) одноцепочечных антитела связывают друг с другом. Это полезно, если нужно получить

двухвалентное или поливалентное антитело на одной полипептидной цепи, или если нужно получить биспецифическое антитело.

[0246] Для получения одноцепочечного антитела (scFv) кодирующие VH- и VL-фрагменты ДНК функционально связывают с другим фрагментом, кодирующим гибкий линкер, например, кодирующим аминокислотную последовательность (Gly4-Ser)3 (SEQ ID NO: 396), таким образом, чтобы последовательности VH и VL можно было экспрессировать в виде непрерывного одноцепочечного белка, с доменами VL и VH, объединенными гибким линкером. См., например, Bird et al. *Science* 242:423-426 (1988); Huston et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988); и McCafferty et al. *Nature* 348:552-554 (1990). Одноцепочечное антитело может быть моновалентным, если используют только один VH и VL; бивалентным, если используют два VH и VL; или поливалентным, если используют более чем два VH и VL. Можно получать биспецифические или поливалентные антитела, которые специфически связываются, например, с PD-1, TIM-3 или LAG-3 человека и с другой молекулой. В некоторых вариантах осуществления биспецифические или поливалентные антитела могут связываться с PD-1 и TIM-3, PD-1 и LAG-3, TIM-3 и LAG-3, или PD-1, TIM-3 и LAG-3.

[0247] В других вариантах осуществления можно получать другие модифицированные антитела с использованием кодирующих антитела молекул нуклеиновых кислот. Например, «каппа тела» (Ill et al. *Protein Eng.* 10:949-57 (1997)), «минитела» (Martin Et al. *EMBO J.* 13:5303-9 (1994)), «диатела» (Holliger et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448 (1993)) или «Janusins» (Trautwein et al. *EMBO J.* 10:3655-3659 (1991) и Trautwein et al. *Int. J. Pак (Suppl.)* 7:51-52 (1992)) можно получать с использованием стандартных молекулярных биологических технологий, следуя указаниям описания.

[0248] Антитело или антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, можно дериватизировать или связывать с другой молекулой (например, другим пептидом или белком). Как правило, антитела или их части дериватизируют таким образом, чтобы дериватизация или мечение не оказывали неблагоприятного воздействия на связывание антигена. Соответственно, антитела и части антител, которые можно использовать в комбинированных лекарственных средствах и композициях согласно изобретению, предназначены для включения как интактных, так и модифицированных форм антител, описанных в настоящем документе. Например, антитело или его часть антитела, которое описано в настоящем документе, можно функционально связать (посредством химического соединения, генетического слияния, нековалентной связи или иным образом) с одним или более другими молекулярными объектами, такими как другое антитело (например, биспецифическое антитело или диатело), детектирующее средство, фармацевтическое средство и/или белок или пептид, которые могут опосредовать связь антитела или части антитела с другой молекулой (такой как коровая область стрептавидина или полигистидиновая метка).

[0249] Один тип дериватизированного антитела получают с помощью поперечного

сшивания двух или более антител (одинакового типа или разных типов, например, для получения биспецифических антител). Подходящие сшивающие средства включают в себя средства, которые являются гетеробифункциональными, имеющими две определенно реакционноспособные группы, разделенные подходящим спейсером (например, *m*-малеимидобензоил-*N*-гидроксисукцинимидным сложным эфиром) или гомобифункциональными (например, дисукцинимидилсуберат). Подобные линкеры доступны, например, от Pierce Chemical Company, Rockford, IL.

[0250] Антитело также можно дериватизировать с помощью химической группы, такой как полиэтиленгликоль (PEG), метильная или этильная группа или углеводная группа. Эти группы могут быть полезны для улучшения биологических характеристик антитела, например, для увеличения времени полужизни в сыворотке.

[0251] Антитело, которое описано в настоящем документе, также можно метить. В рамках настоящего изобретения термины «метка» или «метить» относятся к включению в антитело другой молекулы. В одном варианте осуществления метка представляет собой обнаруживаемый маркер, например, включение радиоактивно меченой аминокислоты или присоединение к полипептиду биотинильных фрагментов, которые можно обнаружить с помощью маркированного авидина (например, стрептавидина, содержащего флуоресцентный маркер, или ферментативная активность, которую можно обнаружить с помощью оптических или колориметрических способов). В другом варианте осуществления метка или маркер могут быть терапевтическими, например, конъюгат лекарственного средства или токсин. Можно использовать различные способы мечения полипептидов и гликопротеинов, известные в данной области. Примеры меток для полипептидов включают в себя, но без ограничения следующие: радиоизотопы или радионуклиды (например, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), флуоресцентные метки (например, FITC, родамин, лантаноидные люминофоры), ферментативные метки (например, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза), хемилюминесцентные маркеры, биотинильные группы, заданные полипептидные эпитопы распознаваемые вторичным репортером (например, последовательности пар лейциновой молнии, сайты связывания для вторичных антител, металлсвязывающие домены, эпитопные метки), магнитные средства, такие как хелаты гадолиния, токсины, такие как токсин коклюша, таксол, цитохалазин В, грамицидин D, бромид этидия, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидроксиантрациндион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол и пуромицин и их аналоги или гомологи. В некоторых вариантах осуществления для уменьшения потенциального стерического препятствия к спейсерным ножкам прикрепляют метки различной длины.

[0252] В некоторых вариантах осуществления антитела, описанные в настоящем документе, можно представить в нейтральной форме (включая цвиттер-ионные формы) или в виде положительно или отрицательно-заряженных частиц. В некоторых вариантах

осуществления антитела могут образовывать комплекс с противоопухом с образованием фармацевтически приемлемой соли.

[0253] Термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к комплексу, содержащему одно или более антител и один или более противоопухомов, причем противоопухомы получают из фармацевтически приемлемых неорганических и органических кислот и оснований.

Комбинированные лекарственные средства

[0254] В настоящем изобретении предложена комбинированное лекарственное средство (например, композиция), которая содержит любое (например, любое одно) из антител против PD-1 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, и любое (например, любое одно) из антител против TIM-3 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство содержит любое (например, любое одно) из антител против PD-1 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, и любое (например, любое одно) из антител против LAG-3 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство содержит любое (например, любое одно) из антител против TIM-3 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, и любое (например, любое одно) из антител против LAG-3 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе. В отдельных вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство содержит любое (например, любое одно) из антител против PD-1 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, любое (например, любое одно) из антител против TIM-3 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе, и любое (например, любое одно) из антител против LAG-3 или его антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе. Комбинированное лекарственное средство может принимать вид, например, лекарственного средства с использованием указанных антител или антигенсвязывающих частей или фармацевтической композиции, содержащей указанные антитела или антигенсвязывающие части.

[0255] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция согласно изобретению содержит антитело 12819 против PD-1 и антитело 15086.17145 против TIM-3. В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция согласно изобретению содержит антитело 12819 против PD-1 и антитело 15532 против LAG-3. В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция согласно изобретению содержит антитело 12819 против PD-1, антитело 15086.17145 против TIM-3 и антитело 15532 против LAG-3.

[0256] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция согласно изобретению содержит:

- антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, содержащее

аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 228-233, соответственно; и антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 8-13, соответственно;

- антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; и антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно; или

- антитело против PD-1, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; и антитело против TIM-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378.

[0257] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция согласно изобретению содержит:

- антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, содержащее аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 228-233, соответственно; и антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

- антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; и антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

- антитело против PD-1, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; и антитело против LAG-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

[0258] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция согласно изобретению содержит:

антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 8-13, соответственно; и антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

- антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно; и антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

- антитело против TIM-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378; и антитело против LAG-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

[0259] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция согласно изобретению содержит:

- антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, содержащее аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 228-233, соответственно; антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 8-13, соответственно; и антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее аминокислотные последовательности H-CDR1-3 и L-CDR1-3 SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

- антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно; и антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, содержащее VH и аминокислотные последовательности VL SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

- антитело против PD-1, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; антитело против TIM-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378; и антитело против LAG-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

[0260] В некоторых вариантах осуществления любое или все антитела в комбинированном лекарственном средстве или композиции могут относиться к IgG, например, IgG1 или IgG2.

Полиспецифические Связывающие молекулы

[0261] В дополнительном аспекте в изобретении предоставлена полиспецифическая связывающая молекула, имеющая специфичность связывания (например, содержащая антигенсвязывающие части, такие как антигенсвязывающие части, содержащие шесть CDR):

- антитела против PD-1, которое описано в настоящем документе, и антитела против TIM-3, которое описано в настоящем документе;

- антитела против PD-1, которое описано в настоящем документе, и антитела против LAG-3, которое описано в настоящем документе; или

- антитела против TIM-3, которое описано в настоящем документе, и антитела против LAG-3, которое описано в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1, антитело против TIM-3 и/или антитело против LAG-3 выбирают из антител, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления полиспецифическая связывающая молекула обладает специфичностью связывания антитела против PD-1, описанного в настоящем документе, антитела против TIM-3, описанного в настоящем документе, и антитела против LAG-3, описанного в настоящем документе. В данной области известны полиспецифические связывающие молекулы, и примеры разных типов полиспецифических связывающих молекул приведены в настоящем документе в другом месте. Комбинированные лекарственные средства согласно изобретению охватывают такие полиспецифические (например, биспецифические или триспецифические) связывающие молекулы.

[0262] В дополнительном аспекте в изобретении предоставлено комбинированное лекарственное средство с двумя или более из биспецифической связывающей молекулы, нацеленной на PD-1, биспецифической молекулы, нацеленной на TIM-3, и биспецифической связывающей молекулы, нацеленной на LAG-3. Биспецифическая связывающая молекула, нацеленная на PD-1, TIM-3 или LAG-3, может иметь специфичность связывания антитела, нацеленного на указанный антиген, как описано в настоящем документе, и специфичность связывания другого антитела, нацеленного на тот же антиген (например, другого антитела, которое описано в настоящем документе) или антитела, которое нацелено на другой белок, например, на другой белок иммунной контрольной точки, раковый антиген или другую молекулу клеточной поверхности, активность которой опосредует состояние болезни, такой как рак. В данной области известны подобные биспецифические связывающие молекулы, и примеры разных типов биспецифических связывающих молекул приведены в настоящем документе в другом месте.

Молекулы нуклеиновых кислот и Векторы

[0263] Также, описаны молекулы нуклеиновых кислот и последовательности, кодирующие антитела против PD-1, против TIM-3 и/или против LAG-3 или их антигенсвязывающие части, описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления разные молекулы нуклеиновых кислот кодируют аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части или антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающей части. В других вариантах осуществления та же самая молекула нуклеиновой кислоты кодирует аминокислотные последовательности тяжелой цепи и легкой цепи антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части или антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающей части.

[0264] если не указано иное, ссылка на нуклеотидную последовательность

охватывает ее комплемент. Таким образом, ссылку на нуклеиновую кислоту, имеющую конкретную последовательность, следует понимать, как охватывающую ее комплементарную цепь с ее комплементарной последовательностью. Термин «полинуклеотид» в рамках настоящего изобретения означает полимерную форму нуклеотидов длиной по меньшей мере 10 оснований, либо рибонуклеотиды, либо дезоксинуклеотиды, либо модифицированную форму нуклеотида любого типа. Термин включает в себя одно и двуцепочечные формы.

[0265] В некоторых вариантах осуществления нуклеотидные последовательности по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% или 99% идентичны одной или более нуклеотидным последовательностям, перечисленным в настоящем документе, например, нуклеотидной последовательности, кодирующей аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей SEQ ID NO: 1, 2, 5, 6, 14, 15, 24, 25, 34, 35, 44, 45, 54, 55, 64, 65, 74, 75, 84, 85, 94, 95, 104, 105, 114, 115, 124, 125, 134, 135, 144, 145, 154, 155, 164, 165, 174, 175, 184, 185, 194, 195, 204, 205, 214, 215, 224, 225, 234, 235, 244, 245, 254, 255, 264, 265, 274, 275, 284, 285, 294, 295, 304, 305, 314, 315, 324, 325, 334, 335, 344, 345, 354, 355, 364, 365 или 391. Термин «процентная идентичность последовательности» в контексте последовательностей нуклеиновых кислот относится к остаткам в двух последовательностях, которые являются одинаковыми при выравнивании для максимального соответствия. Длина сравнения идентичности последовательности может соответствовать протяжению по меньшей мере приблизительно девяти нуклеотидов, обычно по меньшей мере приблизительно 18 нуклеотидов, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно 24 нуклеотидов, обычно по меньшей мере приблизительно 28 нуклеотидов, более типично по меньшей мере приблизительно 32 нуклеотидов и предпочтительно по меньшей мере приблизительно 36, 48 или более нуклеотидов. В данной области известен ряд различных алгоритмов, которые можно использовать для измерения идентичности нуклеотидной последовательности. Например, полинуклеотидные последовательности можно сравнивать с использованием FASTA, Gap или Bestfit, которые являются программами в Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin. FASTA, которая включает в себя, например, программы FASTA2 и FASTA3, обеспечивает выравнивания и процентную идентичность последовательностей областей наилучшего перекрытия между последовательностями запроса и поиска (см., например, Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132:185-219 (2000); Pearson, *Methods Enzymol.* 266:227-258 (1996); и Pearson, *J. Mol. Biol.* 276:71-84 (1998); включены в настоящий документ посредством ссылки). Если не указано иное, используются параметры по умолчанию для конкретной программы или алгоритма. Например, процент идентичности последовательности между последовательностями нуклеиновой кислоты можно определить с использованием FASTA с его параметрами по умолчанию (размером слова 6 и коэффициентом NOPAM для матрицы оценки) или с использованием Gap с его параметрами по умолчанию, как предусмотрено в GCG версии 6.1, включенной в настоящий документ посредством

ссылки.

[0266] В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 2, 5, 6, 14, 15, 24, 25, 34, 35, 44, 45, 54, 55, 64, 65, 74, 75, 84, 85, 94, 95, 104, 105, 114, 115, 124, 125, 134, 135, 144, 145, 154, 155, 164, 165, 174, 175, 184, 185, 194, 195, 204, 205, 214, 215, 224, 225, 234, 235, 244, 245, 254, 255, 264, 265, 274, 275, 284, 285, 294, 295, 304, 305, 314, 315, 324, 325, 334, 335, 344, 345, 354, 355, 364, 365 или 391.

[0267] В любом из приведенных выше вариантов осуществления можно выделить молекулы нуклеиновых кислот. Молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую тяжелую и/или легкую цепь антитела или его антигенсвязывающую часть, описанные в настоящем документе, можно выделить из любого источника, который продуцирует подобное антитело или его часть. В разных вариантах осуществления молекулы нуклеиновых кислот выделяют из В-клеток, которые экспрессируют антитело, выделенное у животного, иммунизированного антигеном PD-1, TIM-3 или LAG-3, или из иммортализованной клетки, полученной из такой В-клетки. В данной области хорошо известны способы выделения нуклеиновых кислот, кодирующих антитела. Для использования в полимеразной цепной реакции (PCR) или клонировании кДНК генов антитела можно выделить и использовать мРНК для получения кДНК. В некоторых вариантах осуществления молекулу нуклеиновой кислоты, которая описана в настоящем документе, можно синтезировать, а не выделять.

[0268] В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты, которая описана в настоящем документе, может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VH из антитела или антигенсвязывающей части, описанных в настоящем документе, присоединенную в рамке к нуклеотидной последовательности, кодирующей константную область тяжелой цепи из любого источника. Аналогично, молекула нуклеиновой кислоты, которая описана в настоящем документе, может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую домен VL из антитела или антигенсвязывающей части, описанных в настоящем документе, присоединенную в рамке к нуклеотидной последовательности, кодирующей константную область легкой цепи из любого источника.

[0269] В дополнительном аспекте молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие переменный домен тяжелой (VH) и/или легкой (VL) цепи, можно «преобразовать» в гены полноразмерных антител. В одном варианте осуществления молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие домены VH или VL, преобразуют в гены полноразмерных антител путем встраивания в вектор экспрессии, уже кодирующий константные области тяжелой цепи (CH) или легкой цепи (CL), соответственно, таким образом, чтобы функционально связать внутри вектора сегмент VH с сегментом (сегментами) CH и/или функционально связать внутри вектора сегмент VL с сегментом CL. В другом варианте осуществления молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие домены VH или VL, преобразуют в гены

полноразмерных антител путем связывания, например, лигирования, молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей домены VH или VL, с молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей область CH и/или CL, с использованием стандартных молекулярных биологических технологий. Затем молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие полноразмерные тяжелую и/или легкую цепи, можно экспрессировать из клетки, в которую они были введены, и выделить антитело.

[0270] молекулы нуклеиновых кислот можно использовать для рекомбинантной экспрессии больших количеств антител. Молекулы нуклеиновых кислот также можно использовать для получения химерных антител, биспецифических антител, одноцепочечных антител, иммуноадгезинов, диател, мутантных антител и производных антител, которые описаны в настоящем документе.

[0271] Также в настоящем документе описан вектор, подходящий для экспрессии одной или обеих цепей антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части и/или антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающей части, которые описаны в настоящем документе. Термин «вектор» в рамках настоящего изобретения означает молекулу нуклеиновой кислоты, способную транспортировать другую нуклеиновую кислоту, с которой она была связана. В некоторых вариантах осуществления вектором является плазида, т.е. кольцевой двухцепочечный фрагмент ДНК, в который можно лигировать дополнительные сегменты ДНК. В некоторых вариантах осуществления вектором является вирусный вектор, в котором в вирусный геном можно лигировать дополнительные сегменты ДНК. В некоторых вариантах осуществления векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую их вводят (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальную точку начала репликации и эписомальные векторы млекопитающих). В других вариантах осуществления векторы (например, неэписомальные векторы млекопитающих) можно интегрировать в геном клетки-хозяина при введении в клетку-хозяина и, следовательно, они реплицируются вместе с геномом хозяина. Кроме того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Подобные векторы упоминаются в настоящем документе как «рекомбинантные векторы экспрессии» (или просто, «векторы экспрессии»).

[0272] В некоторых вариантах осуществления векторы содержат молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют тяжелую цепь, легкую цепь или и тяжелую и легкую цепи описанного в настоящем документе антитела или его антигенсвязывающей части. В некоторых вариантах осуществления векторы содержат молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие белки слияния, модифицированные антитела, фрагменты антител и их зонды.

[0273] В некоторых вариантах осуществления антитела против PD-1, против TIM-3 или против LAG-3 или их антигенсвязывающие части экспрессируют путем встраивания ДНК, кодирующей частичные или полноразмерные легкие и тяжелые цепи, полученные как описано выше, в векторы экспрессии, так чтобы гены были функционально связаны с

необходимыми последовательностями контроля экспрессии, такими как последовательности контроля транскрипции и трансляции. Векторы экспрессии включают в себя плазмиды, ретровирусы, аденовирусы, аденоассоциированные вирусы (AAV), растительные вирусы, такие как вирус мозаики цветной капусты, вирус мозаики табака, космиды, YAC, полученные из EBV эписомы и тому подобное. Кодирующую последовательность антитела можно лигировать в вектор таким образом, чтобы последовательности контроля транскрипции и трансляции внутри вектора выполняли предназначенную для них функцию регулирования транскрипции и трансляции кодирующей последовательности антитела. Вектор экспрессии и последовательности контроля экспрессии можно выбирать так, чтобы они были совместимы с используемой клеткой-хозяином экспрессии. Последовательность кодирования легкой цепи антитела и последовательность кодирования тяжелой цепи антитела можно встроить в отдельные векторы и можно функционально связать с одинаковыми или разными последовательностями контроля экспрессии (например, промоторами). В одном варианте осуществления обе кодирующие последовательности вставляют в один и тот же вектор экспрессии, и их можно функционально связать с одинаковыми последовательностями контроля экспрессии (например, общим промотором), чтобы отделить идентичные последовательности контроля экспрессии (например, промоторы), или с другими последовательностями контроля экспрессии (например, промоторами). Последовательности кодирования антитела можно вводить в вектор экспрессии стандартными способами (например, лигированием комплементарных сайтов рестрикции на фрагменте и векторе гена антитела или лигированием тупого конца, если сайты рестрикции отсутствуют).

[0274] Подходящим вектором является вектор, который кодирует функционально завершённую последовательность иммуноглобулина СН или СL человека с соответствующими сайтами рестрикции, сконструированный так, что любую последовательность VH или VL можно легко вставить и экспрессировать, как описано выше. Гены, кодирующие HC и LC в таких векторах, могут содержать интронные последовательности, которые будут приводить к повышению общего выхода белка антитела путем стабилизации связанной мРНК. Последовательности интрона фланкируют сайтами донора сплайсинга и акцептора сплайсинга, которые определяют, где произойдет сплайсинг РНК. При использовании нескольких интронов расположение последовательностей интронов может быть либо в переменных, либо в константных областях цепей антител, или и в переменных и в константных областях. Полиаденилирование и терминация транскрипции могут происходить в нативных хромосомных сайтах после кодирующих областей. рекомбинантный вектор экспрессии также может кодировать сигнальный пептид, который облегчает секрецию цепи антитела из клетки-хозяина. Ген цепи антитела можно клонировать в вектор таким образом, чтобы связать сигнальный пептид в рамке с аминоконцом цепи иммуноглобулина. Сигнальным пептидом может быть сигнальный пептид иммуноглобулина или гетерологичный

сигнальный пептид (то есть сигнальный пептид из белка, не являющегося иммуноглобулином).

[0275] В дополнение к генам цепей антитела рекомбинантные векторы экспрессии могут нести регуляторные последовательности, которые контролируют экспрессию генов цепей антитела в клетке-хозяине. Специалистам в данной области будет понятно, что конструкция вектора экспрессии, включая выбор регуляторных последовательностей, может зависеть от таких факторов, как выбор клетки-хозяина, подлежащей трансформации, требуемый уровень экспрессии белка и т.д. Предпочтительные регуляторные последовательности для экспрессии клеток-хозяев млекопитающих включают вирусные элементы, которые направляют высокие уровни экспрессии белка в клетках млекопитающих, такие как промоторы и/или энхансеры, полученные из ретровирусных LTR, цитомегаловируса (CMV) (например, промотор/энхансер CMV), вирус обезьян 40 (SV40) (например, промотор/энхансер SV40), аденовирус (например, главный поздний промотор аденовируса (AdMLP)), полиома и сильные промоторы млекопитающих, например, нативные промоторы иммуноглобулина и актина. Дополнительное описание вирусных регуляторных элементов и их последовательностей см., например, в патентах США 5168062, 4510245 и 4968615. В данной области известны способы экспрессии антител в растениях, включая описание промоторов и векторов, а также трансформацию растений. См., например, патент США 6517529. Также в данной области хорошо известны способы экспрессии полипептидов в бактериальных клетках или клетках грибов, например, в дрожжевых клетках.

[0276] В дополнение к генам цепей антител и регуляторным последовательностям рекомбинантные векторы экспрессии могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, которые регулируют репликацию вектора в клетках-хозяевах (например, начало репликации) и селективируемые маркерные гены. Селективируемый маркерный ген облегчает отбор клеток-хозяев, в которые был введен вектор (см., например, патенты США 4399216, 4634665 и 5179017). Например, обычно селективируемый маркерный ген придает клетке-хозяину, в которую был введен вектор, устойчивость к лекарствам, таким как G418, гигромицин или метотрексат. Например, селективируемые маркерные гены включают в себя ген дигидрофолатредуктазы (DHFR) (для использования в клетках-хозяевах dhfr с селекцией/амплификацией метотрексата), ген neo (для селекции G418) и ген глутаматсинтетазы.

[0277] В рамках настоящего изобретения термин «последовательность контроля экспрессии» означает полинуклеотидные последовательности, которые необходимы для осуществления экспрессии и обработки кодирующих последовательностей, в которые они лигированы. Последовательности контроля экспрессии включают в себя соответствующие последовательности инициации, терминации, промотора и энхансера транскрипции; эффективные сигналы процессинга РНК, такие как сигналы сплайсинга и полиаденилирования; последовательности, которые стабилизируют цитоплазматическую мРНК; последовательности, которые повышают эффективность трансляции (то есть

консенсусную последовательность Козака); последовательности, которые повышают стабильность белка; и, при необходимости, последовательности, которые усиливают секрецию белка. Природа таких контрольных последовательностей различается в зависимости от организма хозяина; у прокариот такие контрольные последовательности обычно включают промотор, сайт связывания рибосомы и последовательность терминации транскрипции; у эукариот, как правило, такие контрольные последовательности включают в себя промоторы и последовательность терминации транскрипции. Термин «контрольные последовательности» предназначен для охвата, как минимум, всех компонентов, присутствие которых является существенным для экспрессии и процессинга, а также может охватывать дополнительные компоненты, присутствие которых является предпочтительным, например, лидерные последовательности и последовательности партнеров слияния.

Клетки-хозяева и способы получения антител и композиций антител

[0278] Также описаны способы получения комбинированных лекарственных средств (например, композиций) согласно изобретению. Один вариант осуществления относится к способу получения антител, которые описаны в настоящем документе, включающему предоставление рекомбинантных клеток-хозяев, способных экспрессировать антитела, культивирование указанных клеток-хозяев в условиях, подходящих для экспрессии антител, и выделение полученных антител. Антитела, получаемые в результате такой экспрессии в таких рекомбинантных клетках-хозяевах, называются в настоящем документе «рекомбинантными антителами». Также описаны клетки потомства таких клеток-хозяев и продуцируемые ими антитела.

[0279] В рамках настоящего изобретения термин «рекомбинантная клетка-хозяин» (или просто «клетка-хозяин») означает клетку, в которую был введен рекомбинантный вектор экспрессии. Клетка-хозяин может содержать, например, один или несколько векторов, которые описаны в настоящем документе. Клетки-хозяева могут содержать, например, нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и антитело против PD-1, против TIM-3 и/или против LAG-3 или их антигенсвязывающие части, которые описаны в настоящем документе. Следует понимать, что «рекомбинантная клетка-хозяин» и «клетка-хозяин» означают не только конкретную заявленную клетку, но и потомство такой клетки. Поскольку определенные модификации могут возникать в последующих поколениях из-за мутации или влияния окружающей среды, такое потомство может фактически не быть идентичным родительской клетке, но все же в рамках настоящего изобретения включено в объем термина «клетка-хозяин».

[0280] Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие антитела против PD-1, против TIM-3 и/или против LAG-3 или их антигенсвязывающие части, и векторы, содержащие эти молекулы нуклеиновой кислоты, можно использовать для трансфекции клетки-хозяина подходящего млекопитающего, растения, бактерии или дрожжей.

Трансформацию можно осуществлять любым известным способом введения полинуклеотидов в клетку-хозяина. Способы введения гетерологичных полинуклеотидов в клетки млекопитающих хорошо известны в данной области и включают декстран-опосредованную трансфекцию, осаждение фосфатом кальция, полибрен-опосредованную трансфекцию, слияние протопластов, электропорацию, инкапсуляцию полинуклеотида (полинуклеотидов) в липосомы и прямую микроинъекцию ДНК в ядра. Кроме того, молекулы нуклеиновой кислоты можно вводить в клетки млекопитающих вирусными векторами. Способы трансформации клеток хорошо известны в данной области. См., например, патенты США 4399216, 4912040, 4740461 и 4959455. Способы трансформации растительных клеток хорошо известны в данной области, включая, например, трансформацию, опосредованную *Agrobacterium*, биолистическую трансформацию, прямую инъекцию, электропорацию и вирусную трансформацию. Способы трансформации бактериальных и дрожжевых клеток также хорошо известны в данной области.

[0281] Клеточные линии млекопитающих, доступные в качестве хозяев для экспрессии, хорошо известны в данной области и включают множество иммортализованных клеточных линий, доступных из Американской коллекции типовых культур (ATCC). К ним относятся, в частности, клетки яичника китайского хомячка (CHO), клетки NS0, клетки SP2, клетки HEK-293T, клетки 293 Freestyle (Invitrogen), клетки NIH-3T3, клетки HeLa, клетки почки новорожденного хомяка (BHK), клетки почки африканской зеленой мартышки (COS), клетки гепатоцеллюлярной карциномы человека (например, Пер G2), клетки A549 и ряд других клеточных линий. Особо предпочтительные клеточные линии выбирают путем определения, какие клеточные линии имеют высокие уровни экспрессии. Другими клеточными линиями, которые можно использовать, являются клеточные линии насекомых, такие как клетки Sf9 или Sf21. Когда рекомбинантные векторы экспрессии, кодирующие гены антител, вводят в клетки-хозяева млекопитающих, антитела получают путем культивирования клеток-хозяев в течение периода времени, достаточного для обеспечения экспрессии антитела в клетках-хозяевах или, более предпочтительно, секретируют антитела в культуральной среде, в которой выращивают клетки-хозяева. Антитела можно выделять из культуральной среды с использованием стандартных методов очистки белка. Растительные клетки-хозяева включают, например, *Nicotiana*, *Arabidopsis*, ясню, кукурузу, пшеницу, картофель и т.д. Бактериальные клетки-хозяева включают виды *E.coli* и *Streptomyces*. Клетки-хозяева дрожжей включают *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Pichia pastoris*.

[0282] Кроме того, экспрессию антител или их антигенсвязывающих частей, которые описаны в настоящем документе, из полученных клеточных линий можно улучшить с использованием ряда известных методик. Например, система экспрессии гена глутаминсинтетазы (система GS) является общим подходом для усиления экспрессии в определенных условиях. Система GS обсуждается полностью или частично в связи с патентами EP 0216846, 0256055, 0323997 и 0338841.

[0283] Вероятно, что антитела, экспрессируемые разными клеточными линиями или у трансгенных животных, будут иметь отличающиеся друг от друга паттерны гликозилирования. Однако все антитела, кодируемые молекулами нуклеиновой кислоты, представленными в настоящем документе, или содержащими аминокислотные последовательности, представленные в настоящем документе, являются частью настоящего изобретения, независимо от состояния гликозилирования антител, и, в более общем смысле, независимо от наличия или отсутствия посттрансляционной модификации (модификаций).

[0284] В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу получения композиции антител, содержащей антитело против PD-1 и антитело против TIM-3, причем способ включает:

- предоставление первой и второй клеток-хозяев, причем первая клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против PD-1, которое описано в настоящем документе, а вторая клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против TIM-3, которое описано в настоящем документе,
- культивирование первой и второй клеток-хозяев в условиях, подходящих для экспрессии антитела против PD-1 и антитела против TIM-3, и
- выделение полученных в результате антител.

[0285] В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу получения композиции антител, содержащей антитело против PD-1 и антитело против LAG-3, причем способ включает:

- предоставление первой и второй клеток-хозяев, причем первая клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против PD-1, которое описано в настоящем документе, а вторая клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против LAG-3, которое описано в настоящем документе,
- культивирование первой и второй клеток-хозяев в условиях, подходящих для экспрессии антитела против PD-1 и антитела против LAG-3, и
- выделение полученных в результате антител.

[0286] В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу получения композиции антител, содержащей антитело против TIM-3 и антитело против LAG-3, причем способ включает:

- предоставление первой и второй клеток-хозяев, причем первая клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против TIM-3, которое описано в настоящем документе, а вторая клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против LAG-3, которое описано в настоящем документе,
- культивирование первой и второй клеток-хозяев в условиях, подходящих для экспрессии антитела против TIM-3 и антитела против LAG-3, и
- выделение полученных в результате антител.

[0287] В некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу получения композиции антител, содержащей антитело против PD-1, антитело против TIM-

3 и антитело против LAG-3, причем способ включает:

- предоставление первой, второй и третьей клеток-хозяев, причем первая клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против PD-1, которое описано в настоящем документе, вторая клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против TIM-3, которое описано в настоящем документе, а третья клетка-хозяин способна экспрессировать антитело против LAG-3, которое описано в настоящем документе,
- культивирование первой, второй и третьей клеток-хозяев в условиях, подходящих для экспрессии антитела против PD-1, антитела против TIM-3 и антитела против LAG-3, и
- выделение полученных в результате антител.

[0288] Для получения композиции антител согласно изобретению антитела, направленные на разные мишени, можно получать отдельно, т.е. каждое антитело получают в отдельном биореакторе, или отдельные антитела можно получать вместе в одном биореакторе. Если композицию антител получают более чем в одном биореакторе, очищенную композицию антител можно получать путем объединения антител, полученных из отдельно очищенных супернатантов из каждого биореактора. В РСТ публикации WO 2009/129814 описаны различные подходы для получения композиции поликлональных антител во многих биореакторах, где препараты клеточных линий или антител объединяют в последний момент до или перед или во время последующей обработки.

[0289] В случае получения отдельных антител в одном биореакторе, это можно выполнять, например, как описано в РСТ публикации WO 2004/061104 или WO 2008/145133. Способ, описанный в WO 2004/061104, основан на сайтспецифической интеграции кодирующей антитело последовательности в геном отдельных клеток-хозяев, тогда как способ WO 2008/145133 включает в себя альтернативный подход с использованием случайной интеграции для получения антител в одном биореакторе.

[0290] Дополнительную информацию, касающуюся способов, подходящих для получения композиций антител согласно изобретению можно найти в РСТ публикациях WO 2012/059857 и WO 2013/164689.

[0291] В настоящем изобретении также представлена поликлональная клеточная линия, которая продуцирует:

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;
 - по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;
 - по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;
- или

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе.

[0292] В настоящем изобретении также представлен способ получения описанной выше поликлональной клеточной линии, включающий предоставление клеток-хозяев, каждая из которых содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, и нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть по меньшей мере одного из антител или частей, получаемых с помощью поликлональной клеточной линии.

[0293] В настоящем изобретении также представлены клетки-хозяева, содержащие:

- нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против PD-1, которое описано в настоящем документе, и нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против TIM-3, которое описано в настоящем документе;

- нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против PD-1, которое описано в настоящем документе; и нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против LAG-3, которое описано в настоящем документе;

- нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против TIM-3, которое описано в настоящем документе; и нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против LAG-3, которое описано в настоящем документе; или

- нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против PD-1, которое описано в настоящем документе; нуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против TIM-3, которое описано в настоящем документе; и нуклеотидную

последовательность, которая кодирует тяжелую цепь или ее антигенсвязывающую часть, нуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь или ее антигенсвязывающую часть, или и то и другое, антитела против LAG-3, которое описано в настоящем документе.

Фармацевтические композиции

[0294] В еще одном аспекте изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая в качестве активных ингредиентов (например, в качестве единственных активных ингредиентов):

по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;

- по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе; или

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе.

В некоторых аспектах фармацевтическая композиция содержит полиспецифическую связывающую молекулу (например, полиспецифическую связывающую молекулу, которая обладает специфичностью связывания антитела против PD-1, которое описано в настоящем документе, и антитела против TIM-3 или против LAG-3, которое описано в настоящем документе; или антитела против PD1, антитела против TIM-3 и антитела против LAG-3, которые описаны в настоящем документе).

[0295] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция может дополнительно содержать одно или более дополнительных антител, которые нацелены на один или более соответствующих рецепторов клеточной поверхности, например, на один или более релевантных для рака рецепторов.

[0296] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция предназначена для улучшения, предотвращения и/или лечения расстройства, заболевания или состояния, которое улучшает или замедляет его прогрессирование путем модуляции PD-1, TIM-3 и/или LAG-3. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция предназначена для улучшения, предотвращения и/или лечения рака. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция предназначена для активации иммунной системы.

[0297] Соотношение между антителами или их антигенсвязывающими частями в фармацевтической композиции согласно изобретению (или отдельными описанными в настоящем документе антителами или частями, вводимыми одновременно, последовательно или по отдельности) часто будет таким, что антитела вводят в равных количествах, но это не обязательно должно быть так. Таким образом, композиция согласно изобретению, содержащая антитело против PD-1 и антитело против TIM-3, антитело против PD-1 и антитело против LAG-3 или антитело против TIM-3 и антитело против LAG-3 может содержать указанные антитела в соотношении приблизительно 1:1. Композиция согласно изобретению, содержащая антитело против PD-1, антитело против TIM-3 и антитело против LAG-3, может содержать указанные антитела в отношении приблизительно 1:1:1 (т.е. в равных количествах). Однако в зависимости от характеристик отдельных антител может быть желательно использовать неравные количества различных антител. Подходящие соотношения для различных антител в композициях согласно изобретению могут быть определены, как описано в публикации РСТ WO 2010/040356, в которой описаны способы идентификации и выбора оптимального стехиометрического соотношения между химическими веществами в комбинированном лекарственном продукте, например, в композиции поликлональных антител, для получения комбинаторного лекарственного средства с оптимальным действием и эффективностью.

[0298] Как правило, фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, пригодны для введения в виде препарата в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми вспомогательным средством (средствами), например, как описано ниже.

[0299] Термин «вспомогательное средство» использовано в настоящем документе для описания любого ингредиента, отличного от соединения (соединений) согласно изобретению. Выбор вспомогательного средства (средств) в значительной степени будет зависеть от таких факторов, как конкретный способ введения, влияние вспомогательного средства на растворимость и стабильность и характер лекарственной формы. В рамках настоящего изобретения термин «фармацевтически приемлемое вспомогательное средство» включает в себя любые и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, изотонические средства и средства, замедляющие абсорбцию, и тому подобное, которые являются физиологически совместимыми. Некоторыми примерами фармацевтически приемлемых вспомогательных средств являются вода, физиологический раствор, физиологический раствор с фосфатным буфером, декстроза, глицерин, этанол и тому подобное, а также их комбинации. Во многих случаях будет предпочтительно включать в композицию изотонические средства, например сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит или хлорид натрия. Дополнительными примерами фармацевтически приемлемых веществ являются смачивающие средства или незначительные количества вспомогательных веществ, таких как смачивающие или эмульгирующие средства, консерванты или буферы, которые

увеличивают срок годности или эффективность антитела.

[0300] Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению и способы их получения будут очевидны для специалистов в данной области. Такие композиции и способы их получения можно найти, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition (Mack Publishing Company, 1995). Фармацевтические композиции предпочтительно изготавливаются в условиях GMP (надлежащей производственной практики).

[0301] Фармацевтическую композицию согласно изобретению можно получать, упаковывать или продавать оптом в виде одной разовой дозы или множества отдельных разовых доз. В рамках настоящего изобретения «разовая доза» представляет собой дискретное количество фармацевтической композиции, содержащей заданное количество активного ингредиента. Количество активного ингредиента обычно равно дозировке активного ингредиента, которую вводят субъекту, или подходящей фракции такой дозировки, такой как, например, половина или треть такой дозировки.

[0302] Любой способ введения пептидов, белков или антител, принятый в данной области, можно подходящим образом использовать для антител и антигенсвязывающих частей, описанных в настоящем документе.

[0303] фармацевтические композиции согласно изобретению обычно подходят для парентерального введения. В рамках настоящего изобретения «парентеральное введение» фармацевтической композиции включает в себя любой путь введения, характеризующийся физическим повреждением ткани субъекта и введением фармацевтической композиции через нарушение ткани, что, как правило, приводит к прямому введению в кровоток, в мышцу или во внутренний орган. Таким образом, парентеральное введение включает в себя, но без ограничения, введение фармацевтической композиции путем инъекции композиции, нанесения композиции через хирургический разрез, нанесения композиции через проникающую в ткань нехирургическую рану и тому подобное. В частности, предполагается, что парентеральное введение включает в себя, но без ограничения, подкожную, внутрибрюшинную, внутримышечную, внутригрудинную, внутривенную, внутриартериальную, внутриоболочечную, внутрижелудочковую, внутриуретральную, внутричерепную, внутриопухолевую и внутрисуставную инъекцию или инфузии; и технологии инфузии для диализа почек. Также предусмотрена регионарная перфузия. Конкретные варианты осуществления включают в себя внутривенный и подкожный пути.

[0304] Готовые формы фармацевтической композиции, подходящие для парентерального введения, обычно содержат активный ингредиент в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем, таким как стерильная вода или стерильный изотонический солевой раствор. Подобные готовые формы можно получать, упаковывать или продавать в форме, подходящей для болюсного введения или для непрерывного введения. Инъецируемые готовые формы можно получать, упаковывать или продавать в стандартной лекарственной форме, такой как ампулы или контейнеры с несколькими

дозами, содержащие консервант. Готовые формы для парентерального введения включают в себя, но без ограничения суспензии, растворы, эмульсии на масляных или водных нейтральных основах, пасты и тому подобное. Подобные готовые формы могут дополнительно содержать один или более дополнительных ингредиентов, включая, но без ограничения, суспендирующие, стабилизирующие или диспергирующие средства. В одном варианте осуществления готовой формы для парентерального введения, активный ингредиент представлен в сухой (т.е. Порошковой или гранулированной) форме для восстановления с помощью подходящей нейтральной основы (например, стерильной апиrogenной воды) перед парентеральным введением восстановленной композиции. Парентеральные готовые формы также включают в себя водные растворы, которые могут содержать вспомогательные средства, такие как соли, углеводы и буферные средства (предпочтительно до pH от 3 до 9), но для некоторых вариантов применения их можно получать более подходящим образом в виде стерильного неводного раствора или в виде высушенной формы для использования в сочетании с подходящей нейтральной основой, такой как стерильная, апиrogenная вода. Иллюстративные формы для парентерального введения включают в себя растворы или суспензии в стерильных водных растворах, например, водных растворах пропиленгликоля или декстрозы. При необходимости такие лекарственные формы можно должным образом забуферивать. Другие полезные вводимые парентерально готовые формы включают в себя формы, которые содержат активный ингредиент в микрокристаллической форме или в липосомном препарате. Готовые формы для парентерального введения можно получить для немедленного и/или модифицированного высвобождения. готовые формы для модифицированного высвобождения включают в себя отсроченное, длительное, импульсное, регулируемое, целевое и запрограммированное высвобождение.

[0305] Например, в одном аспекте стерильные инъекционные растворы можно получить путем объединения композиций в необходимом количестве в подходящем растворителе с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, по мере необходимости с последующей стерилизацией с фильтрацией. Как правило, дисперсии получают путем включения активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных растворов для инъекций предпочтительными способами получения являются вакуумная сушка и сублимационная сушка, которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его предварительно стерильно отфильтрованного раствора. Надлежащую текучесть раствора можно поддерживать, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем использования поверхностно-активных веществ. Пролонгированная абсорбция инъекционных композиций может быть достигнута за счет включения в композицию средства, которое задерживает абсорбцию, например, солей моностеарата и желатина, и/или за счет использования покрытий с

модифицированным высвобождением (например, покрытий с медленным высвобождением).

Терапевтическое применение комбинированных лекарственных средств и композиций согласно изобретению

В одном аспекте комбинированные лекарственные средства и композиции согласно изобретению используют для усиления или активации иммунной системы у нуждающегося в этом пациента (например, человека). В некоторых вариантах осуществления у пациента подавлен иммунитет. В некоторых вариантах врач может усилить противораковую активность собственной иммунной системы пациента путем введения комбинированного лекарственного средства или композиции согласно настоящему изобретению, отдельно или в комбинации с другими терапевтическими средствами (последовательно или одновременно). Комбинированное лекарственное средство или композиция модулирует активность PD-1, TIM-3 и/или LAG-3 в иммунных клетках, что приводит к повышению противоракового иммунитета. В некоторых вариантах осуществления комбинированные лекарственные средства и композиции согласно изобретению предназначены для применения при лечении рака, например рака, который возникает в таких тканях, как кожа, легкие, кишечник, толстая кишка, яичник, головной мозг, предстательная железа, почка, мягкие ткани, кроветворная система, голова и шея, печень, мочевого пузыря, молочная железа, желудок, матка и поджелудочная железа, и любых видов рака или других состояний, которые зависят от активности PD-1, TIM-3 и/или LAG-3, и/или в которых пациент экспрессирует или сверхэкспрессирует лиганд любого из них.

[0307] В некоторых вариантах осуществления виды рака, которые лечат комбинированными способами лечения и композициями согласно изобретению, могут включать в себя, например, меланому (например, прогрессирующую или метастатическую меланому), немелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный рак головы и шеи, почечноклеточный рак, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, глиобластому, глиому, плоскоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, гепатоцеллюлярную карциному, рак мочевого пузыря, рак верхних мочевых путей, рак пищевода, рак пищеводно-желудочного перехода, рак желудка, рак печени, рак толстой кишки, колоректальную карциному, множественную миелому, саркомы, острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, рак носоглотки, хронический лимфоцитарный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, лимфоцитарную лимфому, рак яичников, рак желудочно-кишечного тракта, первичный рак брюшины, рак маточной трубы, рак уротелия, HTLV-ассоциированный Т-клеточный лейкоз/лимфому, рак предстательной железы, рак мочеполовой системы, менингиому, аденокортикальный рак, глиосаркому, фибросаркому, рак почки, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак эндометрия, базально-клеточный рак кожи, рак червеобразного отростка, рак желчных протоков, рак слюнных желез, прогрессирующий рак из клеток Меркеля, диффузную В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную

лимфому, мезотелиому, нейроэндокринные опухоли, рак мочеполовой системы, рак костей, рак грудной клетки, рак дыхательных путей, аденокистозную карциному, рак шейки матки, астроцитому, хордому, нейробластому, рак полости рта, плоскоклеточную карциному кожи, рак щитовидной железы, саркому Капоши, рак анального канала, рак желчного пузыря, рак вилочковой железы, рак матки и солидная опухоли. Рак может быть, например, на ранней, средней, поздней или метастатической стадии.

[0308] В отдельных вариантах осуществления виды рака, которые лечат комбинированными способами лечения и композициями согласно изобретению могут включать в себя, например, меланому (например, прогрессирующую меланому или нерезектабельную или метастатическую меланому), немелкоклеточный рак легкого (например, прогрессирующий немелкоклеточный рак легкого), карциному легкого, плоскоклеточный рак головы и шеи, глиобластому (например, рецидивирующую глиобластому), глиосаркому, карциному из клеток Меркеля, фибросаркому, рак яичников, рак мочевого пузыря, почечноклеточный рак, рак толстого кишечника, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, лейкоз (например, острый миелоидный лейкоз), гематологические злокачественные опухоли, солидные опухоли (например, прогрессирующие или метастатические солидные опухоли), опухоли MSI-high, злокачественные новообразования, ассоциированные с HPV и HIV, и опухоли с мутациями BRAC1 и BRAC2.

[0309] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции согласно изобретению предназначены для лечения иммуноопосредованного расстройства, такого как псориаз, системная красная волчанка, MLS (склероз), болезнь Крона, сахарный диабет и/или язвенный колит.

[0310] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композиция предназначена для применения при лечении вирусных и/или паразитарных инфекций, например, когда патогены ингибируют иммунный ответ хозяина. Например, возбудителем может быть, например, ВИЧ, гепатит (А, В или С), вирус папилломы человека (HPV), вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), аденовирус, флавивирус, эховирус, риновирус, вирус Коксаки, корновирус, респираторный синцитиальный вирус, вирус эпидемического паротита, ротавирус, вирус кори, вирус краснухи, парвовирус, вирус коровьей оспы, Т-клеточный лимфотрофный вирус человека (HTLV), цитомегаловирус человека (HCMV), вирус денге, вирус моллюска, полиовирус, вирус бешенства, вирус Джона Каннингема (JC), вирус арбовирусного энцефалита, вирус иммунодефицита обезьян (SIV), грипп, герпес, Giardia, малярия, Leishmania, Staphylococcus aureus или Pseudomonas aeruginosa.

[0311] В некоторых вариантах осуществления комбинированные лекарственные средства и композиции согласно изобретению можно использовать для лечения пациента с ослабленным иммунитетом или с его риском (например, вследствие химиотерапевтической или лучевой терапии).

[0312] В некоторых вариантах осуществления комбинированные лекарственные

средства и композиции согласно изобретению можно использовать для активации и размножения антигенспецифических Т-клеток *ex vivo*.

[0313] В некоторых вариантах осуществления пациент мог ранее лечиться от состояния, характеризующегося сверхэкспрессией или избыточной активностью PD-1, TIM-3 и/или LAG-3 или любого из их лигандов (например, от рака или иммунного расстройства). Например, пациент мог лечиться одним или несколькими лекарствами, нацеленными на PD-1, TIM-3 и/или LAG-3, и мог приобрести устойчивость к указанному лекарству (лекарствам).

[0314] «Лечить», «при лечении» и «лечение» относятся к способу облегчения или устранения биологического расстройства и/или по меньшей мере одного из сопутствующих ему симптомов. В рамках настоящего изобретения термин «облегчить» заболевание, расстройство или состояние означает уменьшение тяжести и/или частоты возникновения симптомов заболевания, расстройства или состояния. Кроме того, ссылки в настоящем документе на «лечение» включают ссылки на радикальное, паллиативное и профилактическое лечение.

[0315] «Терапевтически эффективное количество» относится к количеству вводимого терапевтического средства, которое в некоторой степени ослабит один или несколько симптомов подлежащего лечению расстройства. Терапевтически эффективное количество противоракового терапевтического средства может, например, приводить к уменьшению размеров опухоли, увеличению выживаемости, удалению раковых клеток, уменьшению прогрессирования заболевания, обращению метастазирования или другим клиническим конечным точкам, желательным для медицинских работников.

[0316] В некоторых вариантах осуществления антитела, антигенсвязывающие части, или полиспецифические связывающие молекулы в комбинированном лекарственном средстве согласно изобретению вводят в одной композиции. В других вариантах осуществления антитела, антигенсвязывающие части или полиспецифические связывающие молекулы вводят более чем в одной композиции. Например, комбинированное лекарственное средство, содержащее антитело против PD-1, антитело против TIM-3 и антитело против LAG-3, может предусматривать введение отдельной композиции, содержащей все три антитела, композиции, содержащей два антитела, и композиции, содержащей одно из антител, или отдельной композиции для каждого антитела. В случае, когда имеется более чем одна композиция, композиции можно вводить одновременно, последовательно, отдельно или в любом сочетании.

[0317] Комбинированные лекарственные средства и композиции согласно изобретению можно вводить отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными средствами или антителами (или в виде любой их комбинации). Таким образом, фармацевтические композиции, способы и варианты применения согласно изобретению также охватывают варианты осуществления комбинаций (совместного введения) с другими активными агентами, как подробно описано ниже.

[0318] В рамках настоящего изобретения термины «совместное введение»,

«совместно вводимый» и «в сочетании с», относящиеся к комбинированным лекарственным средствам или композициям согласно изобретению с одним или несколькими другими терапевтическими средствами, предназначены для обозначения и относятся и включают в себя следующее:

- одновременное введение такого комбинированного лекарственного средства (или его компонента) или композиции и терапевтического средства (средств) нуждающемуся в лечении пациенту, когда подобные компоненты составлены вместе в виде единой лекарственной формы, которая по существу одновременно обеспечивает указанные компоненты указанному пациенту,

- по существу одновременное введение такого комбинированного лекарственного средства (или его компонента) или композиции и терапевтического средства (средств) нуждающемуся в лечении пациенту, когда подобные компоненты составлены отдельно друг от друга в виде отдельных лекарственных форм, которые указанный пациент принимает по существу одновременно, при этом указанные компоненты предоставляются указанному пациенту по существу одновременно,

- последовательное введение такого комбинированного лекарственного средства (или его компонента) или композиции и терапевтического средства (средств) нуждающемуся в лечении пациенту, когда подобные компоненты составлены отдельно друг от друга в виде отдельных лекарственных форм, которые указанный пациент принимает последовательно со значительными временными интервалами между каждым введением, при этом указанные компоненты предоставляются указанному пациенту в существенно разное время; и

- последовательное введение такого комбинированного лекарственного средства (или его компонента) или композиции и терапевтического средства (средств) нуждающемуся в лечении пациенту, когда подобные компоненты составлены вместе в виде единой лекарственной формы, которая высвобождает указанные компоненты регулируемым образом, при этом они предоставляются указанному пациенту одновременно, последовательно и/или с перекрывающимся высвобождением в одно и то же и/или разное время, причем каждую часть можно вводить либо одним и тем же, либо иным путем.

[0319] Комбинированные лекарственные средства и композиции согласно изобретению можно вводить без дополнительных терапевтических воздействий, т.е. в виде отдельной терапии (т.е. монотерапии). Альтернативно, лечение с помощью комбинированного лекарственного средства или композиции согласно изобретению может включать в себя по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое воздействие, например, еще одно иммуностимулирующее средство, противораковое средство, противовирусное средство или вакцину (например, противоопухолевую вакцину). В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композицию можно вводить совместно, или его можно составить с другим препаратом/лекарственным средством для лечения рака. Дополнительное терапевтическое

воздействие может включать в себя, например, химиотерапевтическое, противоопухолевое или антиангиогенное средство, другое противораковое антитело и/или лучевую терапию.

[0320] Сочетание комбинированных лекарственных средств и композиций согласно изобретению со средствами, о которых известно, что они индуцируют терминальную дифференцировку раковых клеток, может еще более улучшить эффект. Такие соединения, например, можно выбрать из группы, состоящей из ретиноевой кислоты, транс-ретиноевых кислот, цис- ретиноевых кислот, фенилбутирата, фактора роста нервов, диметилсульфоксида, активной формы витамина D₃, гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом, 12-О-тетрадеканойлфорбол 13-ацетата, гексаметилен-бис-ацетамида, трансформирующего фактора роста-бета, масляной кислоты, циклического АМФ и веснарина. В некоторых вариантах осуществления соединения выбирают из группы, состоящей из ретиноевой кислоты, фенилбутирата, полностью транс-ретиноевой кислоты и активной формы витамина D.

[0321] Фармацевтические изделия, содержащие комбинированное лекарственное средство или композицию согласно изобретению и по меньшей мере одно другое средство (например, химиотерапевтическое, противоопухолевое или антиангиогенное средство), можно использовать в качестве комбинированного лечения для одновременного, раздельного или последовательного введения при лечении рака. Другим средством может быть любое средство, подходящее для лечения конкретного рассматриваемого рака, например средство, выбираемое из группы, состоящей из алкилирующих агентов, например производных платины, таких как цисплатин, карбоплатин и/или оксалиплатин; растительных алкоидов, например, паклитаксела, доцетаксела и/или иринотекана; противоопухолевых антибиотиков, например, доксорубицина (адриамицина), даунорубицина, эпирубицина, идарубицин митоксантрона, дактиномицина, блеомицина, актиномицина, лютомицина и/или митомицина; ингибиторов топоизомеразы, таких как топотекан; и/или антиметаболитов, например, фторурацила и/или других фторпиримидинов. В некоторых вариантах осуществления другим агентом является дакарбазин или гемцитабин.

[0322] Комбинированное лекарственное средство или композицию согласно изобретению также можно использовать в комбинации с другими противораковыми лекарственными средствами, такими как вакцины, цитокины, ингибиторы ферментов, иммуностимулирующие соединения и Т-клеточные лекарственные средства. В случае вакцины это может быть, например, протеиновая, пептидная или ДНК-вакцина, содержащая один или несколько антигенов, которые имеют отношение к подлежащему лечению раку, или вакцина, содержащая дендритные клетки вместе с антигеном. Подходящие цитокины включают в себя, например, IL-2, IFN-гамма и GM-CSF. Примером типа ингибитора фермента, который обладает противораковой активностью, является ингибитор индолеамин-2,3-диоксигеназы (IDO), например 1-метил-D-триптофан (1-D-MT). Адоптивная Т-клеточная терапия относится к различным методам

иммунотерапии, которые включают размножение или конструирование собственных Т-клеток пациентов для распознавания и нападения на их опухоли.

[0323] Также предполагается, что комбинированное лекарственное средство или композицию согласно изобретению можно использовать в дополнительной терапии в сочетании с ингибиторами тирозинкиназы. Это синтетические, главным образом, производные хиназолина, молекулы с низкой молекулярной массой, которые взаимодействуют с внутриклеточным тирозинкиназным доменом рецепторов и ингибируют индуцированное лигандом фосфорилирование рецептора, конкурируя за внутриклеточный сайт связывания Mg-АТР.

[0324] В некоторых вариантах осуществления комбинированное лекарственное средство или композицию можно использовать в комбинации с другим препаратом/лекарственным средством, которое опосредует активацию иммунной системы, включая, но без ограничения, средство, которая модулирует экспрессию или активность A2AR, BTLA, B7-H3, B7-H4, CTLA-4, CD27, CD28, CD39, CD40, CD47, CD55, CD73, CD122, CD137, CD160, CGEN-15049, LY108, CHK1, CHK2, CTLA-3, CEACAM (например, CEACAM-1 и/или CEACAM-5), GAL9, GITR, HVEM, ICOS, IDO, KIR, LAIR1, NKG2A, OX40, PD-L1/PD-L2, LILRB2, CMTM6, TIGIT, TGFR-beta, TNFR2, VISTA и/или 2B4. В некоторых вариантах осуществления средством является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с одной из перечисленных выше молекул. В отдельных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающую часть, композицию или биспецифическую связывающую молекулу согласно изобретению можно вводить в комбинации с ингибитором CTLA-4 (например, антителом против CTLA-4, таким как тримелидумаб или ипилидумаб). В одном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающую часть, композицию или биспецифическую связывающую молекулу согласно изобретению можно вводить в комбинации с ипилидумабом. Также предполагается, что комбинированное лекарственное средство или композицию согласно изобретению можно использовать в комбинации с цитокином (например, IL-1, IL-2, IL-12, IL-15 или IL-21), ингибитором EGFR, ингибитором VEGF и т.д.

[0325] В некоторых аспектах комбинированные лекарственные средства и композиции согласно изобретению можно вводить в комбинации с другим ингибитором пути PD-1, TIM-3 или LAG-3, который может нацеливаться на PD-1, TIM-3, LAG-3 или один или более лигандов любой из этих мишеней. Примеры подобных ингибиторов включают в себя:

- другие антитела против PD-1 и антитела, которые нацелены на лиганды и/или корецепторы PD-1, такие как PD-L1 или PD-L2 (например, пембролизумаб и/или ниволумаб);

- другие антитела против TIM-3 и антитела, которые нацелены на лиганды и/или корецепторы TIM-3, такие как галектин-9, HMGB-1, фосфатидилсериновые липиды, CEACAM1, LILRA1-6 или LILRB1-5 (например, MGB453, TSR-022 и/или LY3321367); и

- другие антитела против LAG-3 и антитела, которые нацелены на лиганды и/или корецепторы LAG-3, такие как МНСII, Галектин-3, и LSECtin (например, BMS-986016, GSK2831781, REGN3767, BAP050 или BAP050-chi или LAG525).

[0326] Понятно, что комбинированные лекарственные средства и композиции согласно изобретению можно использовать в способе лечения, который описан в настоящем документе, можно использовать в лечении, как описано в настоящем документе, и/или можно использовать для получения лекарственного средства для лечения, как описано в настоящем документе. В изобретении также представлены наборы и готовые изделия, содержащие комбинированные лекарственные средства или композиции согласно изобретению, которые описаны в настоящем документе.

Доза и Путь введения

[0327] Комбинированные лекарственные средства и композиции согласно изобретению следует вводить в эффективном количестве для лечения рассматриваемого состояния, т.е. в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого результата. Терапевтически эффективное количество может варьировать в зависимости от таких факторов, как конкретное подлежащее лечению состояние, возраст, пол и вес пациента, а также от того, вводятся ли антитела в качестве самостоятельного лечения или в сочетании с одним или несколькими дополнительными способами лечения рака.

[0328] Схемы приема можно корректировать для обеспечения оптимального желаемого ответа. Например, можно вводить единственный болюс, можно вводить несколько разделенных доз с течением времени, или дозу можно пропорционально уменьшать или увеличивать, как указано в зависимости от терапевтической ситуации. Особенно выгодно составлять парентеральные композиции в разовой дозированной форме для простоты введения и единообразия дозировки. В рамках настоящего изобретения разовая дозированная форма относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для подлежащих лечению пациентов/субъектов; каждая единица содержит заданное количество активного соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификация стандартных лекарственных форм согласно изобретению обычно определяется и напрямую зависит от (a) уникальных характеристик химиотерапевтического средства и конкретного терапевтического или профилактического эффекта, который должен быть достигнут, и (b) имеющихся ограничений для чувствительности у индивидуумов согласно уровню техники составления такого активного соединения для лечения.

[0329] Таким образом, на основании представленного в данном документе раскрытия специалисту в данной области техники должно быть понятно, что дозу и схему приема корректируют в соответствии со способами, хорошо известными в области данных лекарственных средств. То есть можно легко установить максимально допустимую дозу, а также можно определить эффективное количество, обеспечивающее обнаруживаемую

терапевтическую пользу для пациента, а также временные требования для введения каждого средства для обеспечения обнаруживаемой терапевтической пользы для пациента. Соответственно, хотя в качестве примера в данном документе приведены определенная доза и режимы введения, эти примеры никоим образом не ограничивают дозу и режим введения, которые могут быть предоставлены пациенту при практической реализации настоящего изобретения.

[0330] Следует отметить, что значения доз можно варьировать в зависимости от типа и тяжести состояния, подлежащего облегчению, и они могут включать разовую или множественные дозы. Кроме того, следует понимать, что для любого конкретного субъекта конкретные режимы дозирования необходимо корректировать с течением времени в соответствии с индивидуальной потребностью и профессиональным суждением лица, управляющего или контролирующего введение композиций, и что диапазоны дозирования, изложенные в настоящем документе, являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения объема или практического использования выполненного комбинированного лекарственного средства. Кроме того, схема лечения комбинированными лекарственными средствами и композициями согласно данному изобретению могут быть основаны на множестве факторов, включая тип заболевания, возраст, вес, пол, медицинское состояние пациента, тяжесть состояния, путь введения и конкретное используемое антитело. Таким образом, схему лечения можно широко варьировать, но ее можно определять обычным образом с использованием стандартных методов. Например, дозы можно корректировать на основе фармакокинетических или фармакодинамических параметров, которые могут включать клинические эффекты, такие как токсические эффекты и/или лабораторные показатели. Таким образом, настоящее изобретение охватывает индивидуальное повышение дозы, определяемое специалистом в данной области. Определение подходящих дозирования и схем хорошо известно в соответствующей области и должно быть понятно специалисту в данной области техники после того, как будут представлены раскрытые в данном документе идеи.

[0331] Предполагается, что подходящая доза антитела в комбинированном лекарственном средстве или композиции согласно изобретению будет находиться в диапазоне 0,1-100 мг/кг, например, примерно 0,5-50 мг/кг, например, примерно 1-20 мг/кг. Антитело можно, например, вводить в дозировке по меньшей мере 0,25 мг/кг, например, по меньшей мере 0,5 мг/кг, например, по меньшей мере 1 мг/кг, например, по меньшей мере 1,5 мг/кг, например, по меньшей мере 2 мг/кг, например, по меньшей мере 3 мг/кг, например, по меньшей мере 4 мг/кг, например, по меньшей мере 5 мг/кг; и, например, самое большее 50 мг/кг, например, самое большее 30 мг/кг, например, самое большее 20 мг/кг, например, самое большее 15 мг/кг. Обычно введение следует повторять с подходящими интервалами, например, один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели или один раз каждые четыре недели, и в течение срока, который сочтет целесообразным ответственный врач, который может по желанию увеличивать или уменьшать дозировку по мере необходимости.

[0332] Эффективное количество для лечения опухоли можно измерять по его способности стабилизировать прогрессирование заболевания и/или ослаблять симптомы у пациента и предпочтительно обращать вспять прогрессирование заболевания, например, путем уменьшения размера опухоли. Способность комбинированного лекарственного средства согласно изобретению ингибировать рак можно оценить с помощью анализов *in vitro*, например, как описано в примерах, а также на подходящих животных моделях, на которых прогнозируют эффективность при опухолях человека (см., например, Примеры). Для обеспечения оптимального терапевтического ответа в каждой конкретной ситуации, например, для введения в виде одного болюса или в виде непрерывной инфузии и с возможной корректировкой дозировки, как указано в каждом конкретном случае, следует выбирать подходящие схемы лечения.

Готовые изделия и Наборы

[0333] В настоящем изобретении также представлены готовые изделия, содержащие антитело против PD-1, которое конкурирует с антителом, выбранным из группы, состоящей из 12819.15384, 12748.15381, 12748.16124, 12865.15377, 12892.15378, 12796.15376, 12777.15382, 12760.15375 и 13112.15380, за связывание с PD-1 человека или связывается с тем же самым эпитопом PD-1 человека, что и оно; и антитело против TIM-3 или антитело против LAG-3.

[0334] В некоторых вариантах осуществления готовое изделие содержит:

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;

- по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе; или

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;

а также способы изготовления указанных изделий.

[0335] В настоящем изобретении также представлены наборы, содержащие антитело против PD-1, которое конкурирует с антителом, выбранным из группы, состоящей из 12819.15384, 12748.15381, 12748.16124, 12865.15377, 12892.15378, 12796.15376, 12777.15382, 12760.15375 и 13112.15380, за связывание с PD-1 человека или связывается с тем же самым эпитопом PD-1 человека, что и оно; и антитело против TIM-3

или антитело против LAG-3.

[0336] В некоторых вариантах осуществления набор содержит:

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе;

- по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе; или

- по меньшей мере одно антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, по меньшей мере одно антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе, и по меньшей мере одно антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, которые описаны в настоящем документе.

[0337] Если в настоящем документе не указано иное, научные и технические термины, используемые в связи с настоящим изобретением, должны иметь значения, которые обычно понимают специалисты в данной области техники. ниже описаны иллюстративные способы и материалы, хотя при практическом применении или испытании настоящего изобретения также можно использовать способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе. В случае конфликта преимущественную силу будет иметь настоящее описание, включая определения.

[0338] Как правило, номенклатура и технологии, используемые в связи с методами клеточной и тканевой культуры, молекулярной биологии, иммунологии, микробиологии, генетики, аналитической химии, синтетической органической химии, медицинской и фармацевтической химии, а также химии белков и нуклеиновых кислот и гибридизации, описанных в данном документе, хорошо известны и широко используются в данной области. Ферментативные реакции и методы очистки выполняются в соответствии со спецификациями производителя, как это обычно делается в данной области техники или как описано в данном документе.

[0339] Кроме того, если контекст не требует иного, термины в единственном числе включают множественное число, а термины во множественном числе включают единственное число. В данном описании и вариантах осуществления слова «иметь» и «содержать» или такие варианты, как «имеет», «имеющий», «содержит» или «содержащий», следует понимать как подразумевающие включение указанного целого числа или группы целых чисел, но не исключение любого другого целого числа или группы целых чисел.

[0340] Все публикации и другие упомянутые в данном документе ссылки, полностью включены посредством ссылки. Несмотря на то, что в данном документе приведен ряд документов, это цитирование не является признанием того, что любой из этих документов является частью общих знаний в данной области.

[0341] Для лучшего понимания этого изобретения приведены следующие примеры. Эти примеры приведены только в целях иллюстрации, и их никоим образом не следует рассматривать как ограничение объема изобретения.

Примеры

Пример 1: Повышенная активность *in vitro* комбинированного нацеливания на PD-1/TIM-3 в одностороннем анализе MLR

[0342] Этот пример демонстрирует, что комбинированное нацеливание на PD-1 и TIM-3 с использованием антитела 12819 против PD-1 и антитела 15086.17145 против TIM-3 усиливает секрецию IFN- γ в анализе однонаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR).

[0343] В анализе однонаправленной MLR дендритные клетки (DC) и CD4⁺ Т-клетки, выделенные от двух разных здоровых доноров-людей, совместно культивировали для индукции аллоантиген-специфической реакции, приводящей к продукции цитокинов и активации/пролиферации Т-клеток. Дендритные клетки (DC) дифференцировали из моноцитов CD14⁺ на 6 день культивирования с 20 нг/мл гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и 20 нг/мл интерлейкина-4 (IL-4) и смешивали в соотношении 1:10 с CD4⁺ Т-клетками, выделенными из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) из материала здорового донора-человека. Указанные антитела или смесь антител добавляли до конечной общей концентрации 10 мкг/мл. Смесь антител содержала антитела против PD-1 и против TIM-3 в соотношении 1:1. После 5 дней культивирования супернатанты собирали и определяли уровни IFN- γ с использованием электрохемилюминесцентного анализа цитокинов Meso Scale. Для статистического анализа использовали непарный критерий Стьюдента, а для корректировки нескольких сравнений использовали поправку Бонферрони. Статистически значимым считается скорректированное значение $p < 0,05$.

[0344] На фиг.1 показано влияние антител против PD-1 и против TIM-3 на секрецию IFN- γ анализе однонаправленной MLR в трех независимых парах доноров. В анализе однонаправленной MLR антитела как против PD-1 (12819), так и против TIM-3 (15086) были функциональны и увеличивали секрецию IFN- γ во всех трех парах доноров. Кроме того, комбинация антител против PD-1 и против TIM-3 проявляет повышенную активность, вызывая статистически значимое увеличение IFN- γ по сравнению с отдельными антителами.

Пример 2: Повышенная активность *in vitro* объединенного нацеливания на PD-1/TIM-3 в анализе двунаправленной MLR

[0345] Этот пример демонстрирует, что объединенное нацеливание на PD-1 и TIM-3 с использованием антитела 12819 против PD-1 и антитела 15086.17145 против TIM-3

усиливает секрецию IFN- γ в анализе двунаправленной MLR.

[0346] В анализе двунаправленной MLR PBMC от двух разных здоровых человеческих доноров совместно культивировали для индукции аллоантиген-специфической реакции, приводящей к выработке цитокинов и активации/пролиферации Т-клеток. PBMC от двух разных доноров смешивали в соотношении 1:1. Антитела тестировали при конечной общей концентрации антител 10 мкг/мл. После 5 дней культивирования супернатанты собирали и определяли уровни IFN- γ с использованием электрохемилюминесцентного анализа цитокинов Meso Scale. Для статистического анализа использовали непарный критерий Стьюдента, а для корректировки нескольких сравнений использовали поправку Бонферрони. Статистически значимым считается скорректированное значение $p < 0,05$.

[0347] На фиг.2 показано влияние антител против PD-1 и против TIM-3 на секрецию IFN- γ в анализе двунаправленной MLR в трех независимых парах доноров-людей. В анализе двунаправленной MLR антитела против PD-1 и против TIM-3 усиливали секрецию IFN- γ . Кроме того, комбинация антител против PD-1 и против TIM-3 показала повышенную активность, индуцируя повышенную секрецию IFN- γ по сравнению с отдельными антителами.

Пример 3: Антитело против TIM-3 индуцирует пролиферацию Т-клеток *in vitro* в анализе однонаправленной MLR

[0348] Способность антитела 15086.17145 против TIM-3 индуцировать пролиферацию Т-клеток исследовали в анализе однонаправленной MLR. Антитело против TIM-3, антитело положительного контроля против PD-1 (12819) или антитело отрицательного контроля IgG2 добавляли до конечной концентрации 25 мкг/мл и инкубировали в течение 5 дней перед добавлением 1 мкКи/лунку 3H-тимидина в течение дальнейших 18 часов. Клетки собирали, и с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика (MicroBeta2) определяли включение 3H-тимидина.

[0349] Как показано на фиг. 3, антитело 15086.17145 против TIM-3 индуцировало пролиферацию как CD4⁺, так и CD8⁺ Т-клеток в той же степени, что и антитело положительного контроля против PD-1 (Панель А). Добавление растворимого антитела против CD3 усиливало пролиферацию, индуцированную антителом против TIM-3 (Панель В).

Пример 4: Антитело против TIM-3 индуцирует секрецию IL-12p40 из дендритных клеток

[0350] Происходящие из моноцитов дендритные клетки получали из материала здорового донора, как описано ранее в Примере 1. Дендритные клетки инкубировали в течение 5 дней с 10 мкг/мл антитела 15086.17145 против TIM-3 или антитела IgG2 отрицательного контроля, или без обработки, и уровни IL-12p40 в супернатантах определяли с использованием стандартного анализа цитокинов ELISA.

[0351] Как показано на фиг. 4, лигатирование TIM-3 антителом 15086.17145 против TIM-3 приводило к увеличению секреции IL-12p40 из дендритных клеток.

Пример 5: Антитело против TIM-3 индуцирует экспрессию маркеров активации в дендритных клетках

[0352] Для дальнейшего исследования функциональной роли нацеливания на TIM-3, уровни экспрессии выбранных маркеров активации на дендритных клетках, происходящих из моноцитов, определяли после обработки антителом против TIM-3 15086.17145.

[0353] Дендритные клетки обрабатывали 25 мкг/мл антитела против TIM-3 в течение 24 часов, и экспрессию гена костимулирующих молекул определяли с использованием Nanostring Technologies. Уровни экспрессии генов нормализовали до 30 генов домашнего хозяйства с равномерной экспрессией. Данные для выбранных соответствующих генов представлены в виде кратного изменения относительно необработанных контрольных клеток.

[0354] Анализ экспрессии генов показал повышенную регуляцию нескольких маркеров активации и костимулирующих молекул, включая MHC-II (HLA-DQB1 и HLA DQA1), CD80 и CD86 (фиг. 5, панель А). Повышенная экспрессия на клеточной поверхности CD80 и CD86 при обработке антителом 15086.17145 против TIM-3 была подтверждена с использованием анализа FACS (фиг. 5, панель В). Показанные наложения гистограммы представляют дендритные клетки CD11c+, а числа, соседствующие с гистограммами, обозначают значения MFI.

Пример 6: Эффективность In vivo антитела 15086 против TIM-3 в отношении роста опухоли легкого PDX человека

[0355] Этот пример показывает эффективность In vivo антитела 15086.17145 против TIM-3 в отношении полученной из легкого пациента-человека (PDX) ксенотрансплантатной опухолевой модели у CD34+ гуманизированных NSG-SGM3 мышей.

[0356] Мышей NSG-SGM3 гуманизировали с использованием клеток CD34+, полученных из пуповинной крови и с ксенотрансплантированными с правой стороны полученными у пациента фрагментами опухоли легких (LG1306). При размерах опухоли 50-150 мм³ мышей рандомизировали, и начинали лечение. Мышам вводили внутривентральную инъекцию носителя или антитела против 15086 TIM-3 с начальной дозой 10 мг/кг, а затем 5 мг/кг 5х Q5D. Опухоли измеряли три раза в неделю штангенциркулем в двух измерениях, а объем опухоли в мм³ рассчитывали по формуле: (ширина) 2 x длина x 0,5. Серая область обозначает период лечения. Для сравнения объемов опухоли в каждый момент времени между группами лечения использовали двусторонний ANOVA с критерием множественного сравнения Бонферрони. Данные представлены в виде среднего ± SEM, ** p < 0,01.

[0357] Лечение антителом против TIM-3 15086 приводило к значимому ингибированию роста опухоли в модели PDX легкого человека у CD34+ гуманизированных мышей NSG-SGM3 (Фиг. 6).

Пример 7: Усиленное воздействие объединенного нацеливания на PD-1/LAG-3, PD-

1/TIM-3 или PD-1/TIM-3/LAG-3 в анализе PBMC+SEB

[0358] Этот пример описывает усиленное воздействие комбинирования антитела 12819 против PD-1 с антителом 15532 против LAG-3 или антителом 15086.17145 против TIM-3 в анализе PBMC+SEB (Стафилококковый энтеротоксин В).

[0359] SEB является супер-антигеном, который связывается с молекулами МНС II класса и специфическими областями V β рецепторов Т-клеток (TCR) и активирует неспецифическую стимуляцию Т-клеток. Это приводит к активации/пролиферации поликлональных Т-клеток и высвобождению цитокинов, включая IL-2. PBMC человека, выделенные из лейкоцитарной пленки от здоровых доноров, высевали в 384-луночные планшеты и оставляли необработанными или обрабатывали 10 нг/мл SEB и 10 мкг/мл указанных отдельных антител или смесей антител. Комбинации антител представляли собой смеси указанных антител 1:1 или 1:1:1. После 48 часов в увлажненном инкубаторе при 37°C супернатанты удаляли и анализировали на уровне IL-2 с использованием набора для ELISA IL-2 (Life Technologies). Данные представлены в виде среднего $\pm$ SEM. Значимые различия проверяли с использованием t-критерия Стьюдента с коррекцией Бонферрони.

[0360] На фиг. 7 показано увеличение секреции IL-2 после лечения одним антителом против PD-1, против LAG-3 или против TIM-3, смесью двух антител или смесью всех трех антител. Данные показали, что уровни IL-2 повышались при однократной обработке антителом против PD-1, против LAG-3 или против TIM-3, тогда как секреция IL-2 дополнительно повышалась при лечении комбинацией антител против PD-1 и против LAG-3 или антител против PD-1 и против TIM-3. Тройная комбинация антител против PD-1, против LAG-3 и против TIM-3 увеличивала секрецию IL-2 в большей степени, чем любая из комбинаций двух антител.

Пример 8: Повышенная эффективность In vivo комбинирования антител против PD-1 и против LAG-3 в двух сингенных мышинных опухолевых моделях

[0361] Этот пример демонстрирует эффективность In vivo комбинирования антитела 12819 против PD-1 с антителом C9B7W против LAG-3 (реагирующим с LAG-3 мыши; BioXcell) или антителом 15011 против LAG-3 в двух сингенных мышинных опухолевых моделях.

[0362] Клетки $0,5 \times 10^6$ MC38 (карцинома толстой кишки) или 5×10^6 ASB-XIV (карцинома легкого) подкожно инокулировали в бок 6-8-недельных самок мышей BALB/cAnNRj (ASB-XIV) или C57BL/6 (MC38), соответственно. Опухоли измеряли три раза в неделю штангенциркулем в двух измерениях, а объем опухоли в мм³ рассчитывали по формуле: (ширина) 2 x длина x 0,5. На 5-й (ASB-XIV) или 13-й (MC38) день после инокуляции при среднем размере опухоли 30-50 мм³ мышей рандомизировали на четыре группы по десять животных, и начинали лечение. Мыши получали лечение три раза в неделю, в общей сложности шесть обработок, путем внутрибрюшинной инъекции буфера с нейтральной основой, антитела 12819 против PD-1, антитела C9B7W против LAG-3, антитела 15011 против LAG-3 или комбинации антител против PD-1 и против LAG-3.

Лечение антителами проводили в дозе 10 мг/кг/мишень. Для сравнения объемов опухоли в каждый момент времени между группами лечения применяли двусторонний ANOVA с критерием множественных сравнений Бонферрони. Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism версии 5.0 (GraphPad Software, Inc.).

[0363] Сингенные опухоли MC38, обработанные моноклональным антителом 12819 против PD-1, демонстрировали непрерывный рост опухоли, хотя и с более медленной кинетикой роста, чем опухоли, обработанные нейтральной основой (фиг.8). Никакого эффекта лечения отдельно антителом C9B7W против LAG-3 не наблюдалось. Комбинация антитела против PD-1 и антитела против LAG-3 показала повышенное ингибирование роста опухоли по сравнению с лечением антителом против PD-1 и значительное ингибирование роста опухоли по сравнению с опухолями, обработанными нейтральной основой ($p < 0,001$) (фиг.8).

[0364] Сингенные опухоли ASB-XIV, обработанные антителом 12819 против PD-1, показали замедленный рост опухоли по сравнению с опухолями, обработанными нейтральной основой (фиг. 8 и 9). Никакого эффекта от лечения одним антителом C9B7W против LAG-3 не наблюдалось (фиг. 8), тогда как антитело 15011 против LAG-3 значительно ингибировало рост опухоли по сравнению с лечением нейтральной основой ($p < 0,05$) (фиг. 9). Комбинация антитела против PD-1 и антитела C9B7W против LAG-3 значительно повышала противоопухолевую эффективность по сравнению с лечением нейтральной основой (фиг. 8). Значительно усиленный эффект ингибирования опухоли также наблюдался при сочетании антитела против PD-1 и антитела 15011 против LAG-3 по сравнению с однократной обработкой антителом против PD-1 ($p < 0,0001$) или антителом против LAG-3 ($p < 0,05$) (фиг. 9).

Пример 9: Повышенная эффективность *In vivo* комбинирования антитела против PD-1 и против TIM-3 в двух сингенных мышинных опухолевых моделях

[0365] Этот пример демонстрирует эффективность *In vivo* комбинирования антитела 12819 против PD-1 и антитела 5D12 против TIM-3 (реагирующего с мышинные TIM-3; Anderson et al. Science 318:1141-43 (2007)) в двух сингенных мышинных опухолевых моделях.

[0366] Клетки $0,2 \times 10^6$ Sa1N (фибросаркома) или 5×10^6 ASB-XIV (карцинома легкого) подкожно инокулировали в бок самок мышей A/J (Sa1N) и BALB/cAnNRj (ASB-XIV) в возрасте 6-8 недель соответственно. Опухоли измеряли три раза в неделю штангенциркулем в двух измерениях, и объем опухоли в мм^3 рассчитывали по формуле: (ширина) $2 \times$ длина $\times 0,5$. При среднем размере опухоли 60-110 мм^3 мышей рандомизировали, и начинали лечение. Мышей лечили однократной дозой (Sa1N) или лечили три раза в неделю, всего шесть обработок (ASB-XIV), путем внутрибрюшинной инъекции буфера с нейтральной основой, антитела 12819 против PD-1 и/или антитела 5D12 против TIM-3. Лечение мышей с опухолями ASB-XIV проводили антителами в дозе 10 мг/кг/мишень. Мышам с опухолями Sa1N вводили антитела против PD-1 и против TIM-3 в дозе 1 мг/кг и 10 мг/кг, соответственно. Для сравнения объемов опухоли в каждый

момент времени между группами лечения использовали двусторонний ANOVA с критерием множественных сравнений Бонферрони. Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism версии 5.0 (GraphPad Software, Inc.).

[0367] На 6-й день после инокуляции опухолевых клеток ASB-XIV при среднем размере опухоли 56 мм³ мышей рандомизировали на четыре группы по десять животных, и начинали лечение. Лечение антителом 12819 против PD-1 задерживало рост опухоли, тогда как лечение антителом 5D12 против TIM-3 не влияло на рост опухоли по сравнению с лечением нейтральной основой. Выраженный эффект ингибирования опухоли наблюдали, комбинируя антитело против PD-1 с антителом против TIM-3, по сравнению с однократной обработкой любым антителом ($p < 0,001$) (фиг. 10).

[0368] На 13-й день после инокуляции опухолевых клеток Sa1N при среднем размере опухоли 110 мм³ мышей рандомизировали на четыре группы по десять животных и проводили одно лечение антителами. Результаты показали начальную задержку роста опухоли после лечения одним антителом, антителом 12819 против PD-1 или антителом 5D12 против TIM-3. Усиление противоопухолевого эффекта наблюдалось при сочетании антитела против PD-1 с антителом против TIM-3 по сравнению с лечением одним антителом. Комбинированное лечение также значительно ингибировало рост опухоли по сравнению с лечением нейтральной основой ($p < 0,0001$) (фиг. 10).

Пример 10: Эффективность *In vivo* комбинирования антитела против PD-1 и против TIM-3 в модели человеческого ксенотрансплантата опухоли

[0369] Этот пример демонстрирует повышенную эффективность *In vivo* комбинирования антитела 12819 против PD-1 с антителом 15086.17145 против TIM-3 в модели человеческого ксенотрансплантата опухоли, где клетки A375 (меланомы человека) имплантировали мышам с воссозданными PBMC человека.

[0370] PBMC человека внутрибрюшинно инъецировали мышам NOG (донор 1 и донор 2) или NOG-EXL (hGM-CSF/hIL-3-NOG) (донор 3) за один день до подкожного имплантирования клеток меланомы A375 человека. Лечение начинали в день инъекции PBMC, и мышей трижды в неделю лечили в общей сложности шестью обработками путем внутрибрюшинной инъекции буфера-нейтральной основы, антитела против 12819 PD-1, антитела 15086.17145 против TIM-3 или комбинации антител против PD-1 и против TIM-3. Лечение антителами проводили в дозе 10 мг/кг/мишень. Опухоли измеряли три раза в неделю штангенциркулем в двух измерениях, а объем опухоли в мм³ рассчитывали по формуле: (ширина) $2 \times$ длина $\times 0,5$. Для сравнения объемов опухоли в каждый момент времени между группами лечения использовали двусторонний ANOVA с тестом множественных сравнений Бонферрони. Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism версии 5.0 (GraphPad Software, Inc.).

[0371] Как показано на фиг. 11, лечение комбинацией антител против PD-1 и против TIM-3 приводило к значимой (и синергетической, по меньшей мере у Донора 3) задержке роста опухоли ($p < 0,05$ и $p < 0,01$), тогда как лечение одним антителом (против PD-1 или против TIM-3) показало ограниченное действие на рост опухоли по сравнению с

группой лечения нейтральной основой.

Пример 11: Объединенное нацеливание PD-1 и TIM-3 приводит к повышенной выживаемости мышей с совместно имплантированными иммунными и опухолевыми клетками человека

[0372] Этот пример демонстрирует эффективность *In vivo* комбинирования антитела 12819 против PD-1 с антителом 15086.17145 против TIM-3 в мышинных моделях опухолей человека.

[0373] 2×10^6 клеток A375 (меланомы) смешивали с 2×10^6 PBMC человека и инокулировали подкожно в бок 6-8-недельных самок мышей NOD-scid. Во время инокуляции клеток начинали лечение. Мышей лечили три раза в неделю в общей сложности шестью обработками путем внутрибрюшинной инъекции буфера-нейтральной основы, антитела 12819 против PD-1, антитела 15086.17145 против TIM-3 или комбинации антител против PD-1 и против TIM-3. Лечение антителами проводили в дозе 10 мг/кг для каждого антитела. Опухоли измеряли три раза в неделю штангенциркулем в двух измерениях, а объем опухоли в мм³ рассчитывали по формуле: (ширина) 2 x длина x 0,5.

[0374] Выживание определяли как наличие опухоли размером менее 400 мм³. Результаты показали увеличение выживаемости мышей, получавших двойную комбинацию антител против PD-1 и против TIM-3, по сравнению с какой-либо одной обработкой антителами (фиг. 12, панели A-E).

Пример 12: Объединенное нацеливание на PD-1, LAG-3 и TIM-3 приводит к повышенной выживаемости в сингенной мышинной опухолевой модели

[0375] Этот пример демонстрирует эффективность *In vivo* комбинирования антитела 12819 против PD-1 с антителом C9B7W против LAG-3 и антителом 5D12 против TIM-3 в сингенной мышинной опухолевой модели.

[0376] Клетки 5×10^6 ASB-XIV (карцинома легкого) подкожно инокулировали в бок 6-8-недельных самок мышей BALB/cAnNRj. Опухоли измеряли три раза в неделю штангенциркулем в двух измерениях, а объем опухоли в мм³ рассчитывали по формуле: (ширина) 2 x длина x 0,5. На 5-й день после инокуляции при среднем размере опухоли 50 мм³ мышей рандомизировали на семь групп по десять животных, и начинали лечение. Мышей лечили три раза в неделю в общей сложности шестью обработками путем внутрибрюшинной инъекции буфера-нейтральной основы, антитела 12819 против PD-1, антитела C9B7W против LAG-3, антитела 5D12 против TIM-3 или комбинации антител против PD-1 и против LAG-3, против PD-1 и против TIM-3 или против PD-1, против LAG-3 и против TIM-3. Лечение антителами проводили в дозе 10 мг/кг для каждого антитела.

[0377] Выживание определяли как наличие опухоли размером менее 400 мм³. Результаты показали увеличение выживаемости мышей, получавших тройную комбинацию антител против PD-1, против LAG-3 и против TIM-3 по сравнению с любым одним или двумя антителами (фиг. 13, панели A-H).

Таблица 1: Идентификаторы Последовательности Антител

Мишен	Ab	ДНК	Белок	Н-	Н-	Н-	L-	L-	L-
-------	----	-----	-------	----	----	----	----	----	----

b		VH	VL	VH	VL	CDR	CDR	CDR	CDR	CDR	CDR
						1	2	3	1	2	3
	15086.15086	1	2	3							
	15086.16837										
	15086.17145	5	6	7	4	8	9	10	11	12	13
	15086.17144										
	15105	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
	15107	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
	15109	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
	15174	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53
	15175	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
	15260	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73
	15284	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83
	15299	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93
TIM-3	15353	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
	15354	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113
	17244	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123
	17245	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133
	19324	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143
	19416	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153
	19568	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163
	20131	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173
	20185	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183
	20293	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193
	20300	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203
	20362	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213
	20621	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223
	12819.15384	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233
	12748.15381	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243
	12865.15377	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253
PD-1	12892.15378	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263
	12796.15376	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273
	12777.15382	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283
	12760.15375	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293

13112.15380	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303
12748.16124	234	391	236	392	238	239	240	393	394	395

LAG-3	15646	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313
	15532	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323
	15723	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333
	15595	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343
	15431	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353
	15572	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363
	15011	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373

Таблица 2: Последовательности константной области

SEQ ID NO	Описание	Последовательность
374	Белковая последовательность константной области тяжелой цепи IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
375	Белковая последовательность константной области тяжелой цепи IgG1-LALA	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
376	Белковая последовательность константной области тяжелой	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVEPKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY

	цепи IgG4 (S228P)	PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKS RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK
377	Белковая последовательность константной области тяжелой цепи IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQFNSTFRVVSFLTVDVHGDWLNQKEYKCKVSNKGLPA PIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
378	Белковая последовательность константной области легкой цепи Каппа	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
379	Белковая последовательность константной области легкой цепи лямбда	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
380	ДНК последовательность константной области тяжелой цепи IgG1- LALA, исключая интроны	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCC GGCTGTCTTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCAC ACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGCGGGGGGAC CGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTC ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGG

		ACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC GCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCCTCCCAGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGA GATGACCAAGAACCAGGTGACGCTGACCTGCCTGGTCAAA GGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCA CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAA
381	ДНК последовательность константной области тяжелой цепи IgG1- LALA, включая интроны	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAG GGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTCAGCGCTCCTGCCTGGAC GCATCCCGGCTATGCAGTCCCAGTCCAGGGCAGCAAGGCA GGCCCCGTCTGCCTCTTCACCCGGAGGCCTCTGCCCCCCCC ACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGCTTTTTCCCCAGG CTCTGGGCAGGCACAGGCTAGGTGCCCCCTAACCCAGGCCC TGCACACAAAGGGGCAGGTGCTGGGCTCAGACCTGCCAA GAGCCATATCCGGGAGGACCCTGCCCCTGACCTAAGCCCA CCCCAAAGGCCAAACTCTCCACTCCCTCAGCTCGGACACC TTCTCTCCTCCCAGATTCCAGTAACTCCCAATCTTCTCTCT GCAGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAC CGTGCCCAAGGTAAGCCAGCCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTC AAGGCGGGACAGGTGCCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGG ACAGGCCCCAGCCGGGTGCTGACACGTCCACCTCCATCTC

		TTCCTCAGCACCTGAAgcccggGGGGGACCGTCAGTCTTCCT CTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG ACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACG AAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCA GTACAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGTGGGACCCGTGGGGTGCGAG GGCCACATGGACAGAGGCCGGCTCGGCCACCCTCTGCCC TGAGAGTGACCGCTGTACCAACCTCTGTCCCTACAGGGCA GCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGC CTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGC AAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAAC GTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA CTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAA
382	ДНК последовательность константной области тяжелой цепи IgG4 (S228P), исключая интроны	GCTTCCACCAAGGGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTG CTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCTTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCT ACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCA cCATGCCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGGACCATCAGTCTT CCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA GGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGC GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCGTCCTCACCG TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAGAAA

		ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGA ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCC CAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACA AGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGT GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGC CTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA
383	ДНК последовательность константной области тяжелой цепи IgG4 (S228P), включая интроны	GCTTCCACCAAGGGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTG CTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGT GGAATCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCT ACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTTGGTGAGAGGCCAGCACAGGGAGGGAG GGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTCAGCCCTCCTGCCTGGAC GCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGCCCAGGGCAGCAAGGC AGGCCCCATCTGTCTCCTCACCCGGAGGCCTCTGACCACC CCACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGATTTTCCACC AGGCTCCGGGCAGCCACAGGCTGGATGCCCCTACCCCAGG CCCTGaGCATACAGGGGCAGGTGCTGCGCTCAGACCTGCC AAGAGCCATATCCGGGAGGACCCTGCCCCTGACCTAAGCC CACCCCAAAGGCCAAACTCTCCACTCCCTCAGCTCAGACA CCTTCTCTCCTCCCAGATCTGAGTAACTCCCAATCTTCTCT CTGCAGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCCAcCATGCCCA GGTAAGCCAACCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGG ACAGGTGCCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCC AGCCGGGTGCTGACGCATCCACCTCCATCTCTTCCTCAGCA CCTGAGTTCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCC AAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCG AGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCA TAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAG

		CACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC AACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGTGGGACCCACGGGGTGCGAGGGCCACATG GACAGAGGTCAGCTCGGCCCACCCTCTGCCCTGGGAGTGA CCGCTGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCCGAGA GCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAGGCTCACCGT GGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAG AAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAA
384	ДНК последовательность константной области тяжелой цепи IgG2, исключая интроны	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCT GCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTG CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG TGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCC CAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCT ACACCTGCAACGTAAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCTGAGTGCCCA CCGTGCCCAGCACCACTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCC TCTTCCCCCCTCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCG GACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCG TGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGC AGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTT GTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGG TGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCG GAGAACAACACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCG

		ACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCC TCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
385	ДНК последовательность константной области тяжелой цепи IgG2, включая интроны	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCT GCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTG CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCG TGGAACCTCAGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCC CAGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGC GTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCT ACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGACAGTTGGTGAGAGGCCAGCTCAGGGAGGGAG GGTGTCTGCTGGAAGCCAGGCTCAGCCCTCCTGCCTGGAC GCACCCCGGCTGTGCAGCCCCAGCCCAGGGCAGCAAGGC AGGCCCCATCTGTCTCCTCACCCGGAGGCCCTCTGCCCGCCC CACTCATGCTCAGGGAGAGGGTCTTCTGGCTTTTTCCACCA GGCTCCAGGCAGGCACAGGCTGGGTGCCCTACCCCAGGC CCTTCACACACAGGGGCAGGTGCTTGGCTCAGACCTGCCA AAAGCCATATCCGGGAGGACCCTGCCCTGACCTAAGCCG ACCCCAAAGGCCAAACTGTCCACTCCCTCAGCTCGGACAC CTTCTCTCCTCCCAGATCCGAGTAACTCCCAATCTTCTCTC TGCAGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCCAACCGTGCCCA GGTAAGCCAGCCCAGGCCTCGCCCTCCAGCTCAAGGCGGG ACAGGTGCCCTAGAGTAGCCTGCATCCAGGGACAGGCCCC AGCTGGGTGCTGACACGTCCACCTCCATCTCTTCCTCAGCA CCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAA ACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTC ACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAG GTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATA ATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCA CGTTCCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTTGTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGGCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAA CCAAAGGTGGGACCCGCGGGGTATGAGGGCCACATGGAC AGAGGCCGGCTCGGCCCCACCCTCTGCCCTGGGAGTGACCG

		CTGTGCCAACCTCTGTCCCTACAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACC AAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC AGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAG AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
386	ДНК последовательность константной области легкой цепи Каппа	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATC TGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGC CTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGA GAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG CCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAG AAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCC TGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG T
387	ДНК последовательность константной области легкой цепи лямбда	CCTAGGTCAGCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTC CCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCCAAGCCAACAAGGCCACAC TAGTGTGTCTGATCAGTGACTTCTACCCGGGAGCTGTGAC AGTGGCCTGGAAGGCAGATGGCAGCCCCGTCAAGGCGGG AGTGGAGACCACCAAACCCTCCAAACAGAGCAACAACAA GTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCCCGAGCAG TGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATG AAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAAT GTTCATAA

Таблица 3: Последовательности Белка-мишени

Белок

Аминокислотная последовательность

PD-1 MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVVTEGD
человека NATFTCSFSNTS
UniProt ESFVLNWyRMSPSNQTDKLAAFPEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMS
Q15116 VVRARRNDSGT
(SEQ ID YLCGAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHSPSPRPAGQFQTLVV
NO: 388) GVVGGLLGS

LVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYTEЛЬDFQ
 WREKTPEPPVP
 CVPEQTEYATIVFPSGMGTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL
 MFSHLPFDCVLLLLLLLLLTSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVP
 VCWVGKACPV
 TIM-3 FECGNVVLRTDERDVNYWTSRYWLNQDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYC
 CRIQIPGIMND
 человека EKFNKLVIKPAKVTPAPTRQRDFTAAFPRMLTTRGHGPAETQTLGSLPDI
 UniProt NLTQISTLA
 Q8TDQ0 NELRDSRLANDLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYSHSKE
 (SEQ ID KIQNLSLI
 NO: 389) SLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYTIENNVYEVEEPNEYCYVSSRQQPS
 QPLGCRFAM
 P
 MWEAQFLGLLFLQPLWVAPVKPLQPGAEPVWVAQEGAPAQLPCSPTIP
 LQDLSLLRRAG
 VTWQHQPDSGPPAAAPGHPLAPGHPAAPSSWGPRPRRYTVLSVGPGL
 RSGRLPLQPRV
 QLDERGRQRGDFSLWLRPARRADAGEYRAAVHLRDRALSCRLRLRLGQ
 ASMTASPPGSLR
 LAG-3 ASDWVILNCSFSRPDRPASVHWFRNRGQGRVPVRESPHHHLAESFLFLPQ
 человека VSPMDSGPWG
 UniProt CILTYRDGFNVSIMYNLTVLGLEPPTPLTVYAGAGSRVGLPCRLPAGVGT
 P18627 RSFLTAKWTP
 (SEQ ID PGGGPDLLVTGDNGDFTLRLEDVSQAQAGTYTCHIHLEQQQLNATVTLA
 NO: 390) IITVTPKSFGS
 PGSLGKLLCEVTPVSGQERFVWSSLDTPSQRSFSGPWLEAQEAQLLSQPW
 QCQLYQGERL
 LGAAVYFTELSSPGAQRSGRAPGALPAGHLLLFLILGVLSLLLLVTGAFGF
 HLWRRQWRP
 RRFSALEQGIHPPQAQSKIEELEQEPEPEPEPEPEPEPEPEPEQL

Таблица 4: Нуклеотидные последовательности переменных доменов тяжелой и легкой цепей антитела против TIM-3

Ab	Последовательность (5' - 3')
----	------------------------------

15086.15086 VH	CAGGTGCAGCTACAGCAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT GGTGGTTACTACTGGAGTTGGACCCGTCAGCACCCAGGGATGGGCC TGGAGTGGATTGGATACATCTCTTACAGTGGGAGTATCTATTACACT CCGTCCCTCAAGAGTCGACTTACCATATCAGTGGACACGTCTAAGA ACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGC CGTATATTACTGTGCGAGTTTGGATTCTCTGGGGATCTAACCCTGACT ACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 1)
15086.15086 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCA ACTGGCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATTAAG (SEQ ID NO: 2)
15086.16837 / 15086.17145 / 15086.17144 VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGAGTGGCCCCGGACTGGTCAAGCCTTCAC AGACTCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCTGGCGGAAGTATCAGCTC CGGGGGTTACTATTGGAGCTGGACCCGACAGCACCCAGGAATGGGT CTGGAATGGATCGGGTACATTTTCATATAGCGGCTCCATCTACTATAC ACCCTCACTGAAAAGCAGGCTGACCATTTCCGTGGACACATCTAAG AACCAGTTCAGCCTGAAACTGTCTAGTGTGACAGCCGCTGATACTG CAGTCTACTATTGTGCCTCCCTGGACTCTTGGGGCAGTAATAGAGAT TACTGGGGCCAGGGAACCTCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 5)
15086.16837 / 15086.17145 / 15086.17144 VL	GAGATCGTGCTGACTCAGTCCCCAGCCACCCTGTCACTGAGCCCAG GAGAACGAGCAACCCTGTCTTGCAGGGCCTCCCAGTCTGTGAGCTC CTACCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCCGGGCAGGCACCTCGACTG CTGATCTACGACGCCAGTAACAGAGCTACCGGTATTCCCGCCCGCT TCAGTGGTTCAGGCAGCGGAACAGACTTTACCCTGACAATCTCTAG TCTGGAGCCTGAAGATTTTCGCCGTGTACTATTGTGAGCAGAGGTCT AATTGGCCACTGACATTTGGCGGAGGGACTAAGGTGAGATCAAG (SEQ ID NO: 6)

15105 VH	CAGGTCACCTTGAAGGAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAGGCCCTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCTTCAGTGGT TACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGATAGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGT CCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACGCGACCAAGAAACA ATTCTCCCTGAAGCTGACCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTG TATTACTGTGCGAGATATTGGGAGCTCCCTGACTACTGGGGCCAGG GCACCCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 14)
15105 VL	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAAT GATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCC TGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACAATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGT TACCCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 15)
15107 VH	CAGATGCAGCTGGTGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCTTCAGTGGT TACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTC CCTCAAGAGTCGAGTCACCATGTGAGTTGACACGTCCAAGCACCAG TTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGT ATTACTGTGCGAGATGGTGGGAGCTTCCTGACTACTGGGGCCAGGG AACCCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 24)
15107 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAAT GATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCC TGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACAATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGT TACCCGTGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 25)

15109 VH	CAGATGCAGCTGGTGCAATGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGT TACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGATTGGGGAAATCAATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTC CCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAG TTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGT ATTACTGTGCGAGGTTTTACTATGCTCCGAACCTTGACTACTGGGGC CAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 34)
15109 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGC TGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGACAGCCCCTAAGCTCC TGATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAG TTATTCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA (SEQ ID NO: 35)
15174 VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT AGTAATTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGAACACCTACTACAA CCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTAGACACGTCCAAG AACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCGCAGACACGG CTGTGTATTACTGTGCGAGACAGACAGTGGCTGGCCCCCTCTTTGAC TACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 44)
15174 VL	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGC TGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGGTCC TGATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAG TTATTCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAG (SEQ ID NO: 45)

15175 VH	CAGGTCCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG GCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTGCTGGATACACCTTAACCG GCTACTATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGA GTGGATGGGACGGATCAACCCTAACAGTGGTGGCTCAAACAATGCA CAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCCATCA GCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGATCTGACGACACGG CCGTGTATTACTGTGCGAGAGAGGGTCCCCTGTATAGCAGTGGCTG GTACGAGGGTGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACC GTCTCGAGT (SEQ ID NO: 54)
15175 VL	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAGT TGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCC TGATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACCATCAGCAGC CTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAG TTATTCTCCGGGGGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATC AAG (SEQ ID NO: 55)
15260 VH	CAGATGCAGCTACAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAGCCCTCGC AGACCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGGACAGTGTCTCTAGC AACAGTGCTGCTTGGAAGTGGATCAGGCAGTCCCCATCGAGAGGCC TTGAGTGGCTGGGAAGGACATACTACAGGTCCAAGTGGTATTCTGC TTTTGCAGTATCTGTGAAAAGTTCGAATAACCATCAACCCAGACACA TCCAAGAACCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGG ACACGGCTGTGTATTACTGTGCAAGAGAGGGTAGCAGTGGCTGGTA CGGATACGTCCACCCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCG AGT (SEQ ID NO: 64)
15260 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCTTCCCTGTCTGTATCTCTGGG AGAACTGTCACCATCGAATGTCGAGCAAGTGAGGACATTTACAAT GGTTTAGCATGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAATCTCCTCAGCTCC TGATCTATAATGCAAATAGCTTGCATACTGGGGTCCCATCACGGTTC AGTGGCAGTGGATCTGGTACACAGTATTCTCTCAAGATAAACAGCC TGCAATCTGAAGATGTCGCAAGTTATTTCTGTCAACAGTATTACGAT TATCCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 65)

15284 VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCTTCAGCAGT AGTAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCCTGGGAAGGGGC TGGAGTGGATTGGGATCTTCTATTATAGTGGGACCACCTACTACAA CCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGCACACACGTCCAAG AGCCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACGG CTGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGGAGAATATTTTGACCGGTTACT CCCCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 74)
15284 VL	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCATCCTTCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGGGCATTAGCAGT TATTTAGCCTGGTATCAGCAAAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCC TGATCTATGCTGCATCCACTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGCTTAATAGT TACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA (SEQ ID NO: 75)
15299 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCGGGG GGGTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAG CTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTCTCAGCTATTGGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGTGAAAGATGGGGCAGGAGGCTTTGACTACTGGG GCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 84)
15299 VL	GATATTGTGATGACGCAGTCTTCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTATAAAT CATTTAGGCTGGTATCAGCATAAACCAGGGAAAGCCCCCTAATCGCC TAATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACAATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACGGCATAATAGT TACCCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 85)

15353 VH	CAGGTGCAGCTACAGCAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAACAGT GGTGGTCACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAGGGGCC TGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCATCTACTACAA CCCGTCCCTCAAGAGTCGACTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAG AACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGG CCGTGTATTACTGTGCGAGTTATTACTATGCCAGTAGTGGTGATGCT TTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 94)
15353 VL	GAAACGACACTCACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAG GGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAG CTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTC CTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGT TCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGC AACTGGCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 95)
15354 VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCGGGG GGGTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATTACCTTTAGTAA TTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTCTCAGCTATTAGTGGTCGTGGTGGTAGCACATTCTTCGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAGC ACGCTGTATCTGCAAACGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAAGGGGGCCCGTTGTATAACTGGAACGACG GTGATGGTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACAGTCTC GAGT (SEQ ID NO: 104)
15354 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC AACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGTATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCACTGGGTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTGCAGTCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGTATGATAA CTGGCCTCCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 105)

17244 VH	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGA GGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGA CTACTACATGACCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTTTCATACATTAGTGGTGGTGGTGGTTCCATATACTACGCAGA CTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAC TCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TTTATTTCTGTGCGAGAGGGAAC TGGGGATCGGCGGCTCTTGATAT CTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACGGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 114)
17244 VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGTCTGGGCGAGTCAGGGCATTAAACAAT TATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAGAGCCCCTAAGTCCC TGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCGAAGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGT TACCCTCCAACCTCTCGGCCCTGGGACCAACGTGGATATCAAA (SEQ ID NO: 115)
17245 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCGGGG GGGTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATTACCTTTAGCAG CTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTCTCAGCTATTGGTGGTAGTGGTGGTAGCGCATACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA CACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGTGAAAGATGGGGCAGGAGGCTTTGACTACTGGG GCCAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 124)
17245 VL	GACATCCAGTTGACCCAGTCCCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGAAAT CATTTAGGCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCGCC TAATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACAATCAGCAGCC TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCTACAGCATAATAGT TACCCTCCGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 125)

19324 VH	CAGATGCAGCTACAGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCGGGG GGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCGTTAGCAG CTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCTAGGGAAGGGGCTGGAG TGGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAA TACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAGATAGTGGGAGCTACCCACTTTGACTACT GGGGCCAGGGAACCCTGGTCACGGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 134)
19324 VL	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGG GCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATA CAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCA GGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAAT CCGGGGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTAT TACTGTCAGCAATATTATAGTGGTCCGATCACCTTCGGCCAAGGGA CACGACTGGAGATTAAG (SEQ ID NO: 135)
19416 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAACAGT GGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCC TGGAGTGGATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCATCTACTACAA CCCGTCCCTCAGGAGTCGACTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAG AACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGG CCGTTTATTACTGTGCGACTCCTTATTACTATGGTTCGGGGAGTTAT GGGGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACTGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 144)
19416 VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAACAAC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCA ACTGGCCCATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAG (SEQ ID NO: 145)

19568 VH	CAGATGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCTC AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTGTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT GTTGGTTACTACTGGAAGTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCC TGGAGTTCATTGGGTACATCTATTACAGTGGGAGCATCTACTACAA TCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCCGTAGACACGTCTAAG AACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGG CCCTATATTACTGTGCGAGCGTCGGTATAGTGGGAGCCTCCTACTTT GAGTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACAGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 154)
19568 VL	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCA ACTGGCCTATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATCAAG (SEQ ID NO: 155)
20131 VH	CAGGTGCAGCTACAGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTAAGCAGC TATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATAACAACGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTTTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAATTTTGGGTCCTACTACTTTGACTACTGG GGCCAGGGAACCCTGGTCACAGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 164)
20131 VL	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGG GCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATA CAGCTCCAACAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCA GGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGACATCTACCCGGAAT CCGGGGTCCCTAACCGATTCAAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTAT TACTGTCAGCAATATTATAGTGGTCCTCCGACGTTCCGGCCAAGGGA CCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 165)

20185 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTTCGGCCTGGGG GGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGTCTCTGGATTACCTTTAGCAGC TATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATAACAACGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAAC ACGCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAATTTTTGGGTCTTACTACTTTGACTACTGG GGCCAGGGAACCCTGGTCAACGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 174)
20185 VL	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGG GCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATA CAGCTCCAATAATAAGAACTACTTAGCTTGGTACCAGCAGAAATCA GGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAAT CCGGGGTCCCTGACCGATTCAGTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTAT TACTGTCAGCAATATTATAGTGGTCCACCGACGTTTCGGCCAAGGGA CCAAGGTGGAAATCAAA (SEQ ID NO: 175)
20293 VH	ACGTGACAGGGCGCGCCCAGGTCCAGCTGCAGGAGAGCGGTCCCG GACTGGTGAAGCCATCCCAGACACTGAGCCTGACTTGTACTGTGAG CGGCGGTAGCATCTCCAGCGGCGGCTACTATTGGTCCTGGATCAGG CAGCACCCAGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCTACATCTACTATA GCGGCTCTATCTACTATAACCCTTCCCTGAAGAGCCGGGTGACCAT CTCTGTGGACACATCCAAGAATCAGTTCTATCTGAAGCTGTCTTCCG TGACCGCCGCTGATACAGCCGTGTACTATTGCGCCTCACTGATGGTC TGGGGGGTTCATGGGCGATTACTGGGGGCAGGGCACACTGGTCACA GTCTCGAGT (SEQ ID NO: 184)
20293 VL	GAGATTGTGCTGACCCAGTCTCCCGCCACCCTGTCTCTGAGTCCTGG CGAGAGAGCCACCCTGAGCTGCAGAGCCTCTCAGTCCGTGTCCAGC TATCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGC TGATCTACGATGCCTCCAATAGAGCCACCGGCATCCCTGCCAGATT CTCCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACCATCTCCAGCC TGGAACCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGCGGTCCGA CTGGCCTCCTACATTTGGCCAAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG (SEQ ID NO: 185)

20300 VH	CAGGTCCAGCTACAGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTTCATCCTGGGG GGTCCCTAAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCGTTGACACC TATGCCATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCAGGTATTAGCGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAACCTCCAAGAAC ACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCC GTATATTACTGTGCGAAGATAGTGGGAGTTACCCACTTTGACTACT GGGGCCAGGGCACCCCTGGTCACGGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 194)
20300 VL	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCAGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGG GCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATA CAGGTCCAACAATAAGAACTATTTAGCTTGGTACCAGCAGAAACCA GGACAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACTGGGCATCTACCCGGGAAT CCGGGGTCCCTGACCGATTCACTGGCAGCGGGTCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGGCTGAAGATGTGGCAGTTTAT TACTGTCAGCAATATTATAGTGGTCCGATCACCTTCGGCCAAGGGA CACGACTGGAGATTAAG (SEQ ID NO: 195)
20362 VH	CAGGTCACCTTGAAGGAGTCGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT GGTGGTCATTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCC TGGAGTGGATTGGGTACATCTCTTACAGTGGGAGCACCTACTACAA CCCGTCCCTCAAGAGTCGACTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAG AACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGG CCGTGTATTACTGTGCGACCGCGTATTACGATATTTTGACTGGTTAC CCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACGGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 204)
20362 VL	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCGACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCA ACTGGCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATCAAG (SEQ ID NO: 205)

20621 VH	CAGGTGCAGCTACAGCAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCAC AGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT GGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCACCCAGGGAAGGGCC TGGAGTGGATTGGGTACATCTCTTATAGTGGGAGTATCTACTACAA CCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAG AACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCACGGACACGG CCGTGTATTACTGTGCGACCGCGTATTACGATCTTTTGACTGGTTAC CCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACGGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 214)
20621 VL	GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGG GGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGC TACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCC TCATCTATGATGCATCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGC CTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCA ACTGGCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAG (SEQ ID NO: 215)

Таблица 5: Нуклеотидные последовательности переменных доменов тяжелой и легкой цепей антитела против TIM-3

(CDR выделены жирным шрифтом и курсивом)

Ab	Последовательность (от N-конца до C-конца)
15086.15086 VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTL SLTCTVSGGSISSGGYYWSWTRQ HPGMGLEWIGYISYSGSIYYTPSLKSRLTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCASLDSWGSNRDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 3)
15086.16837 15086.17145 15086.17144 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTL SLTCTVSGGSISSGGYYWSWTRQ HPGMGLEWIGYISYSGSIYYTPSLKSRLTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCASLDSWGSNRDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 7)
15086.15086 15086.16837 15086.17145 15086.17144 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAV YYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 4)

15105 VH	QVTLKEWGAGLLRPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP GKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRTISVDATKKQFSLKLT SVTAADTAVYYCARYWELPDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 16)
15105 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGK APKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCLQHNSYPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)
15107 VH	QMQLVQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP PGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRTTMSVDTSKHQFSLKL SSVTAADTAVYYCARWWELPDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 26)
15107 VL	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGK APKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCLQHNSYPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 27)
15109 VH	QMQLVQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP PGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARFYAPNFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 36)
15109 VL	EIVLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGT APKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYSTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 37)
15174 VH	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSNYYWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARQTVAGPLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 46)
15174 VL	EIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGK APKVLIIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTELTLTISLQPDDEFAT YYCQQYNSYSFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 47)
15175 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAAGYTLTGYYMHWVRQ APGQGLEWMGRINPNSGGSNNAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRRLRSDDTAVYYCAREGPLYSSGWYEGAFDIWGQGT MVTVSS (SEQ ID NO: 56)

15175 VL	EIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYSPGLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 57)
15260 VH	QMQLQQSGPGLVKPSQTLTLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQ SPSRGLEWLGRITYYRSKWYSAFAVSVKSRITINPDTSKNQFS LQLNSVTPEDTAVYYCAREGSSGWYGYVHHWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO: 66)
15260 VL	EIVLTQSPASLSVSLGETVTIECRASEDIYNGLAWYQQKPGK SPQLLIYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDVAS YFCQQYYDYPPFTFGQGKVEIK (SEQ ID NO: 67)
15284 VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSFSSSSYYWGWRQP PGKGLEWIGIFYYSGTYYNPSLKSRTISAHTSKSQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGEYFDRLLPFDYWGGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 76)
15284 VL	EIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNSYPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 77)
15299 VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVKDGAGGFDYWGGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 86)
15299 VL	DIVMTQSSSSLSASVGDRVTITCRASQGIINHLGWYQHKPGK APNRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCLRHNNSYPFTFGQGKVEIK (SEQ ID NO: 87)
15353 VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLTCTVSGGSINSGGHYWSWIRQ HPGRGLEWIGIYYSGSIYYNPSLKSRLTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCASYYYASSGDAFDIWWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 96)
15353 VL	ETTLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAV YYCQQRSNWPFTFGQGKVEIK (SEQ ID NO: 97)

15354 VH	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSNYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGRGGSTFFADSVKGRFTISRDNKSTLYLQ TNSLRAEDTAVYYCAKGGPLYNWNDGDGFDIWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 106)
15354 VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSGTGSGTEFTLTISLQSEDFALY YCQQYDNWPPWTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO: 107)
17244 VH	QVQLQESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQAP GKGLEWISYISGGGSIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYFCARGNWGSAALDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 116)
17244 VL	EIVLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGINNYLAWFQQKPGR APKSLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAT YYCQQYNSYPPTLGPVTNVDIK (SEQ ID NO: 117)
17245 VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAIGSGGSAYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCVKDGAGGFDYWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 126)
17245 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGIRNHLGWYQQKPGK APKRLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCLQHNSYPPTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO: 127)
19324 VH	QMQLQQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYAMSWVRQA LGKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKIVGATHFDYWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 136)
19324 VL	EIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQYYSGPITFGQGRLEIK (SEQ ID NO: 137)
19416 VH	QVQLVESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSINSGGYYWSWIRQ HPGKGLEWIGYIYYSGSIYNNPSLRSLTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCATPYYYGSGSYGDYWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 146)

19416 VL	DIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVNNYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFA VYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 147)
19568 VH	QMQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSVGYWNWIRQ HPGKGLEFIGYIYYSGSIYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTALYYCASVGIVGASYFEYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 156)
19568 VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFA VYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 157)
20131 VH	QVQLQQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSGISGSGGSTYNADSVKGRFTISRDN SKNTLFLQ MNSLRAEDTAVYYCAKIFGSYYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 166)
20131 VL	EIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWSTRESGVPNRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQYYSGPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 167)
20185 VH	QVQLVESGGGLVLRPGGSLRLSCAVSGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSGISGSGGSTYNADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKIFGSYYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 176)
20185 VL	EIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAW YQQKSGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQYYSGPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 177)
20293 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ HPGKGLEWIGYIYYSGSIYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFYLK LSSVTAADTAVYYCASLMVWGVMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 186)
20293 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAV YYCQQRSDWPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 187)

20300 VH	QVQLQQSGGGLVHPGGSRLSCAASGFTVDTYAMTWVRQ APGKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRDEDTAVYYCAKIVGVTHFDYWGGTGLVTVSS (SEQ ID NO: 196)
20300 VL	EIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYRSNNKNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQYYSGPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 197)
20362 VH	QVTLKESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGHYWSWIRQH PGKGLEWIGYISYSGSTYYNPSLKSRLTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCATAYYDILTGYPFDYWGQGTGLVTVSS (SEQ ID NO: 206)
20362 VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASDRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFA VYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 207)
20621 VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ HPGKGLEWIGYISYSGSIYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKL SSVTATDTAVYYCATAYYDLLTGYPFDYWGQGTGLVTVSS (SEQ ID NO: 216)
20621 VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFA VYYCQQRSNWPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 217)

Таблица 6: Нуклеотидные последовательности переменных доменов тяжелой и легкой цепей антитела против PD-1

Ab	Последовательность (5'-3')
12819.153 84 VH	GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGACTGGTCCA GCCAGGTGGATCCCTGCGACTGAGCTGCGCCGCTTCTGGATTACCTT TACAAGATACGACATGGTGTGGGTCCGCCAGGCACCAGGAAAGGGA CTGGAGTGGGTGGCTGGTATCGGCGATAGTAACAAGATGACCCGCTA CGCACCTGCCGTCAAAGGGAGGGCAACAATTAGTCGGGACAACCTCA AAGAATACTCTGTATCTGCAGATGAATTCCTGCGAGCTGAGGATAC AGCAGTGTACTATTGTGCCAAAGGTAGCTGCATCGCCTGTTGGGACG AAGCTGGCCGTATTGATGCATGGGGACAGGGGACTCTGGTGACCGTC TCGAG (SEQ ID NO: 224)

12819.153 84 VL	GCTAGCCTCTTACGAGCTGACTCAGGACCCTGCAGTGAGTGTCGCCC TGGGCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGCGGAGGGAGCTACGAT GGTTCCAGCTACTATGGCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGACAGGCACC TGTGACCGTCATCTATAACAATAACAATAGGCCATCTGACATTCCCCG ATCGGTTTCAGTGGATCTAGTTCAGGGAACACAGCTTCTCTGACCATTA CAGGAGCCCAGGCTGAGGACGAAGCAGATTACTATTGTGGGTCATAC GACAGGCCAGAAACAAATTCCGATTATGTGGGAATGTTTGGTAGCGG CACTAAAGTCACCGTCCTAGG (SEQ ID NO: 225)
12748.153 81 12748.161 24 VH	GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTCCA GCCAGGTGGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGCTTCACATT TTCTGACTACGCCATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCTGGCAAGGGAC TGGAGTGGGTCGCAGGAATCGGGAACGATGGAAGTTACACTAATTAT GGAGCAGCCGTGAAGGGGAGAGCTACTATTTCCCGCGACAACAGCA AAAATACCCTGTACCTGCAGATGAACTCACTGAGAGCTGAAGATACC GCAGTGTACTATTGTGCCTCTGACATCAGGAGTCGGAATGATTGCTCC TATTTCCCTGGGAGGGTGTTCAGCGGCTTTATTGACGTGTGGGGTCAG GGCACCCCTGGTCACAGTCTCGAG (SEQ ID NO: 234)
12748.153 81 VL	GCTAGCCTCTTACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCGTCGCCC TGGGCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGCGGATCCAGCTACAGC TATGGGTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGTCAGGCCCCTGTGACCGTCAT CTATGAAAGTAACAATAGGCCATCAGACATTCCCGATCGGTTTTCTG GCTCTAGTTCAGGAAACACAGCTAGTCTGACCATCACAGGGGCCAG GCTGAGGACGAAGCTGATTACTATTGTGGCAATGCAGATTCCAGCTC TGGAATTTTCGGGTCCGGTACTAAAGTCACCGTCCTAGG (SEQ ID NO: 235)
12865.153 77 VH	GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCCGGAGGAGGACTGGTCCA GCCAGGTGGATCCCTGCGACTGAGCTGCGCCGCTTCTGGATTTCGACTT TAGCGATCACGGGATGCAGTGGGTGAGACAGGCACCAGGCAAGGGA CTGGAGTACGTGGGTGTCATCGACACCACAGGCCGCTATACATACTA TGCACCTGCCGTCAAGGGCAGGGCTACCATTAGTCGGGACAACCTCAA AAAATACACTGTACCTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCTGAAGATACT GCAGTGTACTATTGCGCCAAAACCTGCGTGCGGAGGGTACCTGTG CAATACCGTCGGAAGTATCGATGCTTGGGGACAGGGGACACTGGTGA CTGTCTCGAG (SEQ ID NO: 244)

12865.153 77 VL	GCTAGCCTCCTACGAGCTGACTCAGGACCCAGCAGTGAGCGTCGCCC TGGGCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCTGGCGGAGGGTCCAGCTCT TACTATGGTTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCTGTGACCGT CATCTATGACGATACAAACAGGCCAAGTGGAATTCCCGATCGGTTCT CAGGTAGTTCATCCGGCAATACAGCTTCTCTGACCATCACAGGGGCC CAGGCTGAGGACGAAGCAGATTACTATTGTGGTGGCTATGAAGGAAG CTCTCACGCCGGGATTTTTTGGGAAGTGGGACTAAAGTCACCGTCCTAG G (SEQ ID NO: 245)
12892.153 78 VH	GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAAGTGGAGGAGGACTGGTCCA GCCAGGTGGAAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTAGTGGCTTCGACT TTTCCAGCTACACCATGCAGTGGGTGAGGCAGGCACCAGGCAAGGGA CTGGAGTGGGTGGGCGTCATCTCTAGTACTGGAGGGTCTACCGGATA CGGGCCTGCTGTGAAGGGAAGGGCAACAATTTACGGGATAACTCCA AAAATACTCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCAGAAGACACA GCCGTGTACTATTGCGTGAAATCAATCTCCGGAGATGCCTGGTCTGTG GACGGGCTGGATGCTTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACAGTCTCGAG (SEQ ID NO: 254)
12892.153 78 VL	GCTAGCCTCATAACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCTCGCCC TGGGACAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGAGGAGGATCCGCCTAC GGTTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCACCTGTGACCGTCATCTA CTATAACAATCAGAGGCCATCTGGCATTCCCGACCGGTTTCAGTGGAT CCAGCTCTGGGAACACAGCAAGTCTGACCATCACAGGCGCCCAGGCT GAGGACGAAGCCGATTACTATTGTGGAAGCTATGATAGTTCAGCTGT GGGGATTTTTTGGTTCTGGCACTAAAGTCACCGTCCTAGG (SEQ ID NO: 255)
12796.153 76 VH	GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAAGTGGAGGAGGACTGGTCCA GCCAGGTGGAAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCTAGTGGCTTCGACT TTTCCAGCTACACCATGCAGTGGGTGAGGCAGGCACCAGGCAAGGGA CTGGAGTGGGTGGGCGTCATCTCTAGTACTGGAGGGTCTACCGGATA CGGGCCTGCTGTGAAGGGAAGGGCAACAATTTACGGGATAACTCCA AAAATACTCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGGGCAGAAGACACA GCCGTGTACTATTGCGTGAAATCAGTCTCCGGAGATGCCTGGTCTGTG GACGGGCTGGATGCTTGGGGTCAGGGCACCCCTGGTCACAGTCTCGAG (SEQ ID NO: 264)

12796.153 76 VL	GCTAGCCTCATACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCGTCGCCC TGGGCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGAGGAGGATCCGCCTAC GGTTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCACCTGTGACCGTCATCTA CTATAACAATCAGAGGCCATCTGACATTCCCGATCGGTTTCAGTGGAT CCAGCTCTGGGAACACAGCAAGTCTGACCATCACAGGCGCCCAGGCT GAGGACGAAGCCGATTACTATTGTGGAAGCTATGATAGTTCAGCTGT GGGGATTTTTGGTTCTGGCACTAAAGTCACCGTCCTAGG (SEQ ID NO: 265)
12777.153 82 VH	GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCCGGAGGAGGACTGGTCCA GCCAGGTGGAAGCCTGCGACTGTCTTGCGCCGCTAGTGGATTTCGACT TTTCCAGCTACGGAATGCAGTGGGTGAGGCAGGCACCAAGGCAAGGG ACTGGAGTGGGTGGGCGTCATCTCTGGAAGTGGGATTACCACACTGT ACGCACCTGCCGTCAAGGGAAGGGCTACTATCTCACGGGACAACCTCT AAAAATACAGTGTATCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCTGAAGATAC CGCAGTCTACTATTGTACACGCTCACCCCTCCATCACAGACGGCTGGA CTTATGGAGGGGCCTGGATTGATGCTTGGGGTCAGGGCACTCTGGTG ACCGTCTCGAG (SEQ ID NO: 274)
12777.153 82 VL	GCTAGCCAGCTACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCGTCGCCC TGGGCCAGACAGTGAGAATCACTTGCAAGTGGCGGAGATGGGTCATAC GGTTGGTTCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCCTGTGACCGTCATCTA TGACAACGATAATAGGCCATCTGACATTCCCGATCGGTTTAGTGGCT CCAGCTCTGGAAACACAGCTTCTCTGACCATCACAGGGGCCAGGCT GAGGACGAAGCTGATTACTATTGTGGCAATGCAGACCTGTCCGGGGG TATTTTCGGCAGCGGAATAAGTCACCGTCCTAGG (SEQ ID NO: 275)
12760.153 75 VH	GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGAGGACTGGTCCA GCCAGGTGGATCCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCTTCTGGATTCACCTT TAGTACATTCAACATGGTGTGGGTGAGGCAGGCACCTGGAAAGGGAC TGGAGTACGTGGCTGAAATCTCCAGCGACGGCTCTTTTACATGGTAT GCAACTGCCGTCAAGGGCAGGGCCACCATTAGTCGGGATAACTCAAA AAATACAGTGTACCTGCAGATGAATCCCTGAGGGCTGAGGACACCG CAGTCTACTATTGCGCAAAATCCGATTGTTCTAGTTCATACTATGGAT ATAGCTGTATCGGGATCATTGACGCTTGGGGTCAGGGCACTCTGGTG ACCGTCTCGAG (SEQ ID NO: 284)

12760.153 75 VL	GCTAGCCTCCTATGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGAGCGTCGCCC TGGGCCAGACAGTGAGAATCACTTGCTCCGGCGGAATTAGCGACGAT GGCTCTTACTATTACGGATGGTTCCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCC TGTGACCGTCATCTATATTAACGACAGGCGGCCAAGTAATATCCCCG ATAGGTTTTTCAGGGTCCAGCTCTGGTAACACAGCTTCTCTGACCATTA CAGGGGCCCAGGCTGAGGACGAAGCTGATTATTACTGTGGCTCTTAC GATAGTTCAGCAGGGGTGGGTATCTTCGGCAGTGGAAGTAAAGTCAC CGTCCTAGG (SEQ ID NO: 285)
13112.153 80 VH	GGCGCGCCGAGGTGCAGCTGCTGGAAAGTGGAGGAGGACTGGTCCA GCCAGGTGGATCACTGAGACTGTCCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTT TTCCAGCTACAACATGTTCTGGGTGCGCCAGGCACCAAGGAAAGGGAC TGGAGTTTGTGCTGAAATCTCTGGTAGTAATACTGGAAGCCGAACC TGGTACGCACCTGCCGTGAAGGGCAGGGCTACAATTTCTCGGGACAA CAGTAAAAATACTCTGTATCTGCAGATGAACTCTCTGAGGGCTGAGG ATACAGCAGTGTACTATTGTGCAAAATCAATCTACGGAGGGTATTGC GCCGGTGGCTATTCCTGTGGTGTGGGCCTGATTGACGCATGGGGACA GGGGACCCTGGTCACAGTCTCGAG (SEQ ID NO: 294)
13112.153 80 VL	GCTAGCCTCATAACGAGCTGACCCAGGACCCAGCAGTGTCCTCGTCGCCC TGGGCCAGACAGTGAGAATCACTTGACAGTGGCGGATCCAGCGATTAC TATGGGTGGTTCCAGCAGAAGCCCGGTCAGGCCCCCTGTGACCGTCAT CTACTATAACAACAAGAGGCCATCTGACATTCCCGATCGGTTTAGTG GCTCTAGTTCAGGAAACACAGCCTCCCTGACCATTACAGGGGGCCCAG GCTGAGGACGAAGCTGATTACTATTGTGGCAATGCAGACTCCAGCGT GGGAGTCTTCGGGTCTGGTACTAAGGTGACCGTCCTAGG (SEQ ID NO: 295)
12748.161 24 VL	GCTAGCCTCTTACGAGCTGACTCAGCCACCTTCCGTGTCCGTGTCCCC AGGACAGACCGCAAGAATCACATGCAGTGGCGGATCCAGCTACTCAT ATGGGTGGTTCCAGCAGAAGCCTGGTCAGGCCCCCGTGACAGTCATC TATGAGAGCAACAATAGGCCTTCTGACATTCCAGAACGGTTTAGTGG CTCTAGTTCAGGAACCACAGTGACTCTGACCATCAGCGGGGTCCAGG CCGAGGACGAAGCTGATTACTATTGTGGCAACGCTGATTCCAGCTCT GGAATTTTCGGGTCCGGTACAAAAGTGACTGTCCTAGG (SEQ ID NO: 391)

Таблица 7: Нуклеотидные последовательности переменных доменов тяжелой и легкой цепей антитела против PD-1

(CDR выделены жирным шрифтом и курсивом)

Ab	Последовательность (от N-конца до C-конца)
12819.15384 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFTRYDMVWVRQAPGKG LEWVAGIGDSNK MTRYAPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMN SLRA EDTAVYYCAKG SCIACWDEAGRIDAWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 226)
12819.15384 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGGSYDGSSYYGWYQQKPGQAP VTVIYNNNNRPSDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED EADYYCGS YDRPETNSDYVGMFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 227)
12748.15381 12748.16124 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSDYAMNWVRQAPGKG LEWVAGIGNDGSY TNYGAAVKGRATISRDNSKNTLYLQMN SLRA EDTAVYYCASDIRSRNDCSYFLGGC SSGFIDVWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 236)
12748.15381 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGSSYSYGWFQQKPGQAPVTVIY ESNNRPSDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED EADYYCGNADSSSG IFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 237)
12865.15377 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFDFSDHGMQWVRQAPGKG LEYVGVIDTTGRYTY YAPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMN SLRAE DTAVYYCAKTTCVGGYLCNTVGSIDAWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 246)
12865.15377 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGGSSSYGWYQQKPGQAPVTV IYDDTNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED EADYYCGGYEGS SHAGIFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 247)
12892.15378 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFDFSSYTMQWVRQAPGKGL EWVGVISSTGGSTGYGPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMN SLRAED TAVYYCVKSISGDAWSVDGLDAWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 256)
12892.15378 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGGSAYGWYQQKPGQAPVTVIY YNNQRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAED EADYYCGSYDSSA VGIFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 257)
12796.15376 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCAASGFDFSSYTMQWVRQAPGKGL EWVGVISSTGGSTGYGPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMN SLRAED TAVYYCVKSVSGDAWSVDGLDAWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 266)

12796.15376 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGGSAYGWYQQKPGQAPVTVIY YNNQRPSDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGSYDSSA VGIFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 267)
12777.15382 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASG FDFSSYGMQWVRQAPGKG LEWVGVISGSGITTLYAPAVKGRATISRDN SKNTVYLQMNSLRAE DTAVYYCTRSPSITDGW TYGGAWIDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 276)
12777.15382 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGDGSYGFQQKPGQAPVTVIY DNDNRPSDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGNADLSG GIFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 277)
12760.15375 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTFNMVWVRQAPGKGL EYVAEISSDGSFTWYATAVKGRATISRDN SKNTVYLQMNSLRAED TAVYYCAKSDCSSSYGYSCIGIIDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 286)
12760.15375 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGISDDGSYYYGWFQQKPGQAP VTVIYINDRRPSNIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGSY DSSAGVGIFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 287)
13112.15380 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYNMFWVRQAPGKGL EFVAEISGSNTGSRTWYAPAVKGRATISRDN SKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCAKSIYGGYCAGGYSCGVGLIDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 296)
13112.15380 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGGSSDYWGWFQQKPGQAPVTVI YNNKRPSDIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCGNADSS VGVFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 297)
12748.16124 VL	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGGSSSYGWFGQQKPGQAPVTVIY ESNNRPSDIPERFSGSSSGTTVTLTISGVQAEDEADYYCGNADSSSG IFGSGTKVTVL (SEQ ID NO: 392)

Таблица 8: Нуклеотидные последовательности переменных доменов тяжелой и легкой цепей антитела против LAG-3

Ab	Последовательность (5'-3')
----	----------------------------

15646 VH	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTGGGGTGCCGGTCTGCTGAAGCCTTCTGAA ACTCTGTCTCTGACTTGTGCCGTCTATGGTGGATCATTCAGCGGCTACTA TTGGTCCTGGATCAGGCAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGG CGAGATCAACCACCGGGGCTCTACCAACTACAATCCCTCTCTGAAGAGC AGGGTGACCATCTCCGTGGACACATCTAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGC TGAGCTCCGTGACCGCCGCTGATACAGCCGTGTACTATTGCACAAGGGG GGAGGAATGGGAGTCACTGTTCTTTGATTACTGGGGGCAGGGGACACT GGTCACAGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 304)
15646 VL	GAAATCGTCCTGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGAGCCTGAGCCCCGGAG AAAGAGCCACCCTGTCCTGCCGAGCAAGCCAGTCCATCAGCTCCTATCT CGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTAC GGCGCCTCCAACAGAGCTACAGGAATCCCAGCCCGCTTCAGCGGCTCC GGCTCTGGCACAGACTTTACCCTGACAATCTCTAGCCTGGAGCCTGAGG ATTTGCGCGTGTACTATTGCCAGCAGAGATCTAATTGGCCACTGACATT CGGCGGCGGCACACGGGTGGAGATCAAG (SEQ ID NO: 305)
15532 VH	CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTGGGGCGCCGGCCTGCTGAGACCAAGCGAG ACCCTGTCCCTGACATGCGCCGTGTATGGCGAGAGCTTCTCCGGCTATT ACTGGAAGTGGATCCGGCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCG GCGAGATCAATCACTCCGGCTCCACCAATTACAACCCATCCCTGAAGTC TCGGGTGACAATCAGCGTGGATACAAGCAAGACCCAGTTCAGCCTGAA GCTGAGCTCCGTGACAGCTGCCGATACCGCCGTGTATTACTGCGCCAGA GGCTGGGACCTGCTGGATTGGAATGACTACTGGAATGAGTACTGGGGC CAGGGGACCCTGGTGACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 314)
15532 VL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACCCTGTCTCTGTCCCCTGGCG AGCGGGCCACCCTGTCCTGTAGAGCTTCTCAGTCCGTGTCTTCCTACCTG GCTTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCAAGACTGCTGATCTAT GACGCTTCCAATCGGGCTACCGGCATCCCAGCTCGCTTTAGCGGCTCCG GCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCCTGGAGCCAGAGGA TTTTGCCGTGTATTACTGTGAGCAGAGGTCCAATTGGCCACTGACATTT GGCGGCGGCACAAAGGTTGAGATCAAG (SEQ ID NO: 315)

15723 VH	CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTGGGGCGCTGGCCTGCTGAAGCCCTCTGAG ACCCTGTCTCTGACCTGTGCCGTGTATGGCGGCAGCTTCTCCGGCTATTA CTGGAACTGGATCCGCCAGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGG CGAGATCAACCACTCCGGCTCTACCAACTACAATCCTTCTCTGAAGTCC AGGGTGACAATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTTAGCCTGAAG CTGTCCAGCGTGACAGCTGCCGATACAGCCGTGTATTACTGCGCCAGAG GCGAGGATTGGGGCGAGAGCTTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGGACCC TGGTGACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 324)
15723 VL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCTGCCACCCTGTCTCTGTCCCCTGGCG AGCGGGCCACCCTGAGCTGTCGGGCCTCCCAGTCCGTGAGCTCCTACCT GGCTTGGTATCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCAAGACTGCTGATCTA CGCCGCTTCCAATCGGGCCACCGGCATCCCCGCCAGATTTTCCGGCTCT GGCTCCGGCACCGATTTACCCCTGACAATCAGCTCCCTGGAGCCAGAGG ACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGAGGTCTAATTGGCCACTGACATT TGGCGGCGGCACCAAGGTTGAGATCAAG (SEQ ID NO: 325)
15595 VH	CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGAGCT TCTGTGAAGGTTTCCTGTAAGGTTTCCGGCTATAGCCTGACCGAGATCT CTATGCACTGGGTACGGCAAGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGATGG GCGGCTTTGACCCAGAGGATGGCGAGACCATCTACGCTCAGAGGTTTCA GGGGCGCGTGATCATGACCGAGGATACCAGCACCGATACCGCCTACAT GGAGCTGTCCAGCCTGAGATCCGAGGATACCGCCGTGTATTACTGCGCT ACTGGTGGCTGGGGCCCCAATTGGTTCGATCCTTGGGGCCAGGGGACCC TGGTGACCGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 334)
15595 VL	GACATCCAGATGACACAGTCTCCTTCCTCTGTGAGCGCCTCTGTGGGCG ACCGCGTGACCATCACATGCCGCGCTTCCCAGGGGATCTCTTCCTGGCT GGCTTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTA TGCTGCCAGCAGCCTGCAGTCCGGCGTGCCTTCCAGGTTTAGCGGCTCC GGCTCCGGCACCGACTTTACACTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCCGAGG ATTTTGCCACCTATTACTGTCAGCAGGCGAATTCCTTCCCTTTTACATTC GGCCCTGGCACCAAGGTTGATATCAAG (SEQ ID NO: 335)

15431 VH	CAGGTTTCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCAAGCCAG ACCCTGTCTCTGACATGCGCCATCTCCGGCGACAGCGTGTCTCTAACT CCGCCGCTTGGAATTGGATCCGGCAGTCTCCATCCAGAGGCCTGGAGTG GCTGGGCAGAACCTATTACCGGTCCAAGTGGTACAACGATTATGCCGTG TCCGTGAAGAGCAGAATCACCATCAACCCTGATACCAGCAAGAACCAG TTCAGCCTGCAGCTGAATTCCGTGACCCCAGAGGATACAGCCGTGTATT ACTGTGCTAGGGACGATGATTGGAATGACTTCGATTACTGGGGCCAGG GGACCCTGGTGACAGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 344)
15431 VL	GAGATCGTGCTGACCCAGTCCCCAGCTACACTGTCCCTGTCTCCCGGCG AGCGGGCCACCCTGAGCTGTAGAGCTTCCCAGTCCGTGTCTTCCTATCT GGCTTGGTATCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCAAGGCTGCTGATCTA CGACGCCTCCAATAGAGCCACCGGCATCCCAGCTAGATTTTCTGGCTCC GGCTCCGGCACCGATTTCACTGACCATCTCTAGCCTGGAGCCAGAGG ATTTTGCTGTATATTACTGCCAGCAGCGCAGCAACTGGCCCCTGACATT TGGCGGCGGCACCAAGGTTGAGATCAAG (SEQ ID NO: 345)
15572 VH	CAGCTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCTCTGAG ACCCTGTCCCTGACATGCACCGTGAGCGGCGATTCCATCAGCTCTTCCA GCTATTACTGGGGCTGGATCCGGCAGCCCCCGGCAAGGGCCTGGAGT GGATCGGCAGCATCTTCTACTCCGGCAATACATATTATAATCCTTCTCTG AAGAGCAGGGTGACAATCAGCGTGGATACCTCCAAGAATCAGTTTAGC CTGAAGCTGAGCTCCGTGACAGCTGCCGATACAGCCGTGTATTACTGCG CTAGGGAGGACGATTTTCTGACCGATTATTACGGCGCTTTCGACATCTG GGGCCAGGGGACAATGGTGACAGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 354)
15572 VL	GATATCCAGATGACCCAGTCTCCAAGCACCCCTGAGCGCCTCTGTGGGCG ATCGGGTGACCATCACATGTCGGGCTTCTCAGTCCATCAGCAGCTGGCT GGCTTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTA CAAGGCCTCTTCCAGCGAGAGCGGCGTGCCATCCAGGTTTAGCGGCTCC GGCTCCGGCACCGAGTTTACCCTGACCATCTCTTCCCTGCAGCCCGATG ACTTTGCCACCTACTACTGTCAGCAGTACAATTCCTATCTGACATTCGGC GGCGGCACCAAGGTTGAGATCAAG (SEQ ID NO: 355)

15011 VH	GAGGTGCAGCTGCTGGAATCCGGAGGAGGACTGGTCCAGCCAGGTGGA TCCCTGCGACTGAGCTGCGCCGCTTCTGGCTTCGACTTTAGAAGCTACG CAATGATGTGGGTCCGCCAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAGTGGGTGG GAGGGATCAACGGTGAAGTCGGTGGCTCTAATACATACTATGCACCTGC CGTCAAGGGAAGGGCTACTATTAGTCGGGACAACCTCAAAAAATACCCT GTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGGGCCGAGGATACCGCCGTGTACTAT TGCCTGAAAGGTGCTGGCGCATGCGGCATCTGTAATGACGATATTGATG CATGGGGACAGGGGACCCTGGTGACAGTCTCGAGT (SEQ ID NO: 364)
15011 VL	AGTTATGAGCTGACTCAGGACCCAGCAGTGTCAGTCGCCCTGGGCCAG ACAGTGAGAATCACTTGCAGTGGGGCTGGTTCATATGCAGGCTCCTACT ATTACGGATGGCACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCACCTGTGACAGTCA TCTACGACAACGATAAAAGGCCAAGCAATATTCCCGACCGGTTCTCTGG GTCCAGCTCTGGTAACACCGCCTCCCTGACCATTACTGGGGCCCAGGCT GAGGACGAAGCTGATTATTACTGTGGCTCTACAAACGATAATGACGAT GGCGGACTGTTTGGCTCCGGAACCTAAGGTCACCGTCCTA (SEQ ID NO: 365)

Таблица 9: Нуклеотидные последовательности переменных доменов тяжелой и легкой цепей антитела против LAG-3

(CDR выделены жирным шрифтом и курсивом)

Ab	Последовательность (от N-конца до C-конца)
15646 VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGE INHRGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCTRGEW ESLFFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 306)
15646 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTRVEI K (SEQ ID NO: 307)
15532 VH	QVQLQQWGAGLLRPSETLSLTCAVYGESFSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGE INHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKTQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGWDL LDWNDYWNEYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 316)
15532 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 317)

15723 VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWNWIRQPPGKGLEWIGE INHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGEDW GESFFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 326)
15723 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYAAS NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 327)
15595 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYSLTEISMHWVRQAPGKGLEWMG GFPEDGETIYAQRFRQGRVIMTEDTSTDATAYMELSSLRSEDATAVYYCATGG WGPNWFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 336)
15595 VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAA SSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPFTFGPGTKV DIK (SEQ ID NO: 337)
15431 VH	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLG RTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARD DDWNDFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 346)
15431 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS NRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 347)
15572 VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSISSSSYYWGWRQPPGKGLEWIGSI FYSGNTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREDDFL TDYYGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO: 356)
15572 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SSESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYLTFGGGTKVEI K (SEQ ID NO: 357)
15011 VH	EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFDERSYAMMWVRQAPGKGLEWVG GINGEVGGSNTYYAPAVKGRATISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCV KGAGACGICNDDIDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 366)
15011 VL	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCSGAGSYAGSYYYGWHQQKPGQAPVTVIY DNDKRPSNIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDADYYCGSTNDNDGGLF GSGTKVTVL (SEQ ID NO: 367)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ усиления иммунитета у нуждающегося в этом пациента-человека, включающий введение пациенту

антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, которое конкурирует с антителом, выбранным из группы, состоящей из 12819.15384, 12748.15381, 12748.16124, 12865.15377, 12892.15378, 12796.15376, 12777.15382, 12760.15375 и 13112.15380, за связывание с PD-1 человека или связывается с тем же самым эпитопом PD-1 человека, что и оно; и

антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части или антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающей части.

2. Способ по п. 1, причем способ включает введение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части, антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части и антитела против LAG-3 или его антигенсвязывающей части.

3. Способ по п. 1 или 2, в котором антитело против PD-1 связывается с эпитопом PD-1 человека, содержащим:

а) остатки V64, L128, P130, K131 и A132 SEQ ID NO: 388;

б) остатки V44 и T145 SEQ ID NO: 388;

с) остатки K131 и E136 SEQ ID NO: 388; или

д) остатки V44 и T145 SEQ ID NO: 388.

4. Способ по п. 1 или 2, в котором антитело против PD-1 связывается с эпитопом PD-1 человека, содержащим:

а) остатки 56-64, 69-90 и 122-140 SEQ ID NO: 388;

б) остатки 69-90 и 122-140 SEQ ID NO: 388;

с) остатки 69-75 SEQ ID NO: 388;

д) остатки 136-140 SEQ ID NO: 388; или

е) остатки 69-75 и 136-140 SEQ ID NO: 388.

5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором антитело против PD-1 имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

а) связывается с PD-1 человека с KD 750 пМ или менее;

б) связывается с PD-1 яванского макака с KD 7 нМ или менее;

с) связывается с PD-1 мыши с KD 1 нМ или менее;

д) не связывается с PD-1 крысы;

е) увеличивает секрецию IL-2 в анализе стимулированной стафилококковым энтеротоксином В (SEB) цельной крови;

ф) увеличивает секрецию IFN-γ в анализе однонаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов;

г) ингибирует взаимодействие PD-1 с PD-L1 по меньшей мере на 60% в концентрации 10 мкг/мл в конкурентном анализе методом проточной цитометрии;

h) блокирует связывание PD-L1 и PD-L2 с PD-1 по меньшей мере на 90% в концентрации 10 мкг/мл, что определяют с помощью анализа методом биослойной

интерферометрии; и

i) ингибирует рост опухоли *in vivo*.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором определяющие комплементарность области 1-3 тяжелой цепи (H-CDR) и определяющие комплементарность области 1-3 легкой цепи (L-CDR) антитела против PD-1 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 228-233, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 238-243, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 248-253, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 258-263, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 268-273, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 278-283, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 288-293, соответственно; или
- h) SEQ ID NO: 298-303, соответственно.

7. Способ по п. 6, в котором вариабельный домен тяжелой цепи (VH) и вариабельный домен легкой цепи (VL) антитела против PD-1 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 236 и 237, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 236 и 392, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 246 и 247, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 256 и 257, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 266 и 267, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 276 и 277, соответственно;
- h) SEQ ID NO: 286 и 287, соответственно; или
- i) SEQ ID NO: 296 и 297, соответственно.

8. Способ по п. 7, в котором антитело против PD-1 содержит:

a) тяжелую цепь (HC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 226 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и легкую цепь (LC), содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 227 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 237 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 236 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 392 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 246 и

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 247 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

е) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 256 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 257 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

ф) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 266 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 267 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

г) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 276 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 277 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379;

h) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 286 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 287 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379; или

i) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 296 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 297 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379.

9. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором антитело против TIM-3 конкурирует с антителом, выбранным из группы, состоящей из 15086.17145, 15086.15086, 15086.16837, 15086.17144, 20131, 20293, 15105, 15107, 15109, 15174, 15175, 15260, 15284, 15299, 15353, 15354, 17244, 17245, 19324, 19416, 19568, 20185, 20300, 20362 и 20621, за связывание с TIM-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом TIM-3 человека, что и оно.

10. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором антитело против TIM-3 связывается с эпитопом TIM-3 человека, содержащим:

- а) остатки P50, V60, F61, E62, G64, R69, I117, M118 и D120 SEQ ID NO: 389;
- б) остатки F61, R69 и I117 SEQ ID NO: 389; или
- с) остатки P50, F61, E62, I117, M118 и D120 SEQ ID NO: 389.

11. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором антитело против TIM-3 связывается с эпитопом TIM-3 человека, содержащим:

- а) остатки 62-67 SEQ ID NO: 389; или
- б) остатки 114-117 SEQ ID NO: 389.

12. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором антитело против TIM-3 имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

a) связывается с TIM-3 человека с KD 23 нМ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

b) связывается с TIM-3 яванского макака с KD 22 нМ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

c) связывается с TIM-3 человека с EC50 1,2 нМ или менее, что измеряют с помощью ELISA;

d) связывается с TIM-3 яванского макака с EC50 46 нМ или менее, что измеряют с помощью ELISA;

e) увеличивает секрецию IFN- γ в анализе однонаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов;

f) увеличивает секрецию IFN- γ в анализе двунаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов;

g) увеличивает секрецию TNF- α в анализе однонаправленной реакции смешанной культуры лимфоцитов;

h) увеличивает секрецию TNF- α из дендритных клеток; и

i) ингибирует взаимодействие TIM-3 с фосфатидилсерином.

13. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором H-CDR1-3 и L-CDR1-3 антитела против TIM-3 содержат аминокислотные последовательности из:

a) SEQ ID NO: 8-13, соответственно;

b) SEQ ID NO: 18-23, соответственно;

c) SEQ ID NO: 28-33, соответственно;

d) SEQ ID NO: 38-43, соответственно;

e) SEQ ID NO: 48-53, соответственно;

f) SEQ ID NO: 58-63, соответственно;

g) SEQ ID NO: 68-73, соответственно;

h) SEQ ID NO: 78-83, соответственно;

i) SEQ ID NO: 88-93, соответственно;

j) SEQ ID NO: 98-103, соответственно;

k) SEQ ID NO: 108-113, соответственно;

l) SEQ ID NO: 118-123, соответственно;

m) SEQ ID NO: 128-133, соответственно;

n) SEQ ID NO: 138-143, соответственно;

o) SEQ ID NO: 148-153, соответственно;

p) SEQ ID NO: 158-163, соответственно;

q) SEQ ID NO: 168-173, соответственно;

r) SEQ ID NO: 178-183, соответственно;

s) SEQ ID NO: 188-193, соответственно;

t) SEQ ID NO: 198-203, соответственно;

u) SEQ ID NO: 208-213, соответственно; или

v) SEQ ID NO: 218-223, соответственно.

14. Способ по п. 13, в котором VH и VL антитела против TIM-3 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 3 и 4, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 16 и 17, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 26 и 27, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 36 и 37, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 46 и 47, соответственно;
- g) SEQ ID NO: 56 и 57, соответственно;
- h) SEQ ID NO: 66 и 67, соответственно;
- i) SEQ ID NO: 76 и 77, соответственно;
- j) SEQ ID NO: 86 и 87, соответственно;
- k) SEQ ID NO: 96 и 97, соответственно;
- l) SEQ ID NO: 106 и 107, соответственно;
- m) SEQ ID NO: 116 и 117, соответственно;
- n) SEQ ID NO: 126 и 127, соответственно;
- o) SEQ ID NO: 136 и 137, соответственно;
- p) SEQ ID NO: 146 и 147, соответственно;
- q) SEQ ID NO: 156 и 157, соответственно;
- r) SEQ ID NO: 166 и 167, соответственно;
- s) SEQ ID NO: 176 и 177, соответственно;
- t) SEQ ID NO: 186 и 187, соответственно;
- u) SEQ ID NO: 196 и 197, соответственно;
- v) SEQ ID NO: 206 и 207, соответственно; или
- w) SEQ ID NO: 216 и 217, соответственно.

15. Способ по п. 14, в котором антитело против TIM-3 содержит:

a) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

о) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 136 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 137 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

р) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 146 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 147 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

q) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 156 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 157 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

r) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

s) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 176 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 177 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

t) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 186 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 187 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

u) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 196 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 197 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

v) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 207 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378; или

w) НС, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 216 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, 375, 376 или 377, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 217 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378.

16. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором антитело против LAG-3 конкурирует с антителом, выбранным из группы, состоящей из 15532, 15646, 15723,

15595, 15431, 15572 и 15011, за связывание с LAG-3 человека или связывается с тем же самым эпитопом LAG-3 человека, что и оно.

17. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором антитело против LAG-3 связывается с эпитопом LAG-3 человека, содержащим:

- a) остатки H85, P86, A87, P89, S91, W92 и G93 SEQ ID NO: 68;
- b) остатки A40, Q41, P43, P46, P49, D52, T62, Q64, H65, Q66, P67, D68, G93, P94, P96, R98, Y99, T100, V101, P106, G107, R119, E124, R129, G130, D131, S133, R137, P138, D143, R148 и R163 SEQ ID NO: 68;
- c) остатки A40, Q41, P43, P46, P49, D52, T62, Q64, H65, Q66, P67, D68, P96, Y99, T100, V101, P106, G107, R119, E124, R129, G130, D131, S133, R137, P138, D143, R148 и R163 SEQ ID NO: 68; или
- d) остатки G107, L109, R110 и S111 SEQ ID NO: 68.

18. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором антитело против LAG-3 связывается с эпитопом LAG-3 человека, содержащим:

- a) остатки 98-105 SEQ ID NO: 68;
- b) остатки 78-105 и 123-131 SEQ ID NO: 68;
- c) остатки 23-30, 40-66, 88-105, 123-137 и 148-152 SEQ ID NO: 68; или
- d) остатки 23-30, 40-66, 98-105, 118-137 и 148-161 SEQ ID NO: 68.

19. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором антитело против LAG-3 имеет по меньшей мере одно из следующих свойств:

a) в концентрации 20 мкг/мл уменьшает связывание LAG-3 человека с МНС II класса человека в клетках A375 более чем на 85% по сравнению с антителом отрицательного контроля, что определяют с помощью конкурентного анализа методом проточной цитометрии;

b) в концентрации 20 мкг/мл уменьшает связывание LAG-3 человека с МНС II класса человека в клетках A375 до 35%-85% по сравнению с антителом отрицательного контроля, что определяют с помощью конкурентного анализа методом проточной цитометрии;

c) блокирует связывание между LAG-3 человека, экспрессируемым в клетках Jurkat, и МНС II класса человека, экспрессируемым в клетках Raji;

d) связывается с LAG-3 человека с EC50 0,1 нМ или менее, что измеряют с помощью проточной цитометрии;

e) связывается с LAG-3 яванского макака с EC50 0,3 нМ или менее, что измеряют с помощью проточной цитометрии;

f) связывается с LAG-3 человека с KD $3,0 \times 10^{-8}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

g) связывается с LAG-3 яванского макака с KD $1,5 \times 10^{-7}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

h) связывается с LAG-3 мыши с KD $3,5 \times 10^{-8}$ или менее, что измеряют с помощью поверхностного плазмонного резонанса;

- i) стимулирует выработку IL-2 в обработанных стафилококковым энтеротоксином В (SEB) мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMC);
- j) уменьшает клеточные уровни LAG-3 в Т-клетках человека;
- k) уменьшает растворимые уровни LAG-3 в культуре Т-клеток человека;
- l) индуцирует регресс роста опухоли *in vivo*;
- m) задерживает рост опухоли *in vivo*; и
- n) не связывается с тем же самым эпитопом LAG-3 человека, что и антитело 25F7-Lag3.5.

20. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором Н-CDR1-3 и L-CDR1-3 антитела против LAG-3 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 318-323, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 308-313, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 328-333, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 338-343, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 348-353, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 358-363, соответственно; или
- g) SEQ ID NO: 368-373, соответственно.

21. Способ по п. 20, в котором VH и VL антитела против LAG-3 содержат аминокислотные последовательности из:

- a) SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно;
- b) SEQ ID NO: 306 и 307, соответственно;
- c) SEQ ID NO: 326 и 327, соответственно;
- d) SEQ ID NO: 336 и 337, соответственно;
- e) SEQ ID NO: 346 и 347, соответственно;
- f) SEQ ID NO: 356 и 357, соответственно; или
- g) SEQ ID NO: 366 и 367, соответственно.

22. Способ по п. 21, в котором антитело против LAG-3 содержит:

a) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 316 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 317 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

b) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 306 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 307 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

c) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 326 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 327 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

d) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 336 и

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 337 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

е) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 346 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 347 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378;

ф) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 356 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 357 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 378; или

г) HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 366 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367 и аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 379.

23. Способ по п. 1, включающий введение пациенту:

а) антитела против PD-1, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно; и антитела против TIM-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-13, соответственно;

б) антитела против PD-1, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; и антитела против TIM-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно; или

с) антитела против PD-1, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; и антитела против TIM-3, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378.

24. Способ по п. 1, включающий введение пациенту:

а) антитела против PD-1, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно; и антитела против LAG-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

б) антитела против PD-1, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; и антитела против LAG-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

с) антитела против PD-1, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; и антитела против LAG-3, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

25. Способ по п. 1, включающий введение пациенту:

а) антитела против PD-1, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно; антитела против TIM-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-13, соответственно; и антитела против LAG-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

б) антитела против PD-1, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; антитела против TIM-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно; и антитела против LAG-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

с) антитела против PD-1, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; антитела против TIM-3, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378; и антитела против LAG-3, содержащего HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

26. Способ по любому из пп. 1-25, в котором антитела или антигенсвязывающие части вводят пациенту одновременно.

27. Способ по п. 26, в котором антитела или их антигенсвязывающие части вводят в одной фармацевтической композиции.

28. Способ по любому из пп. 1-25, в котором антитела или антигенсвязывающие части вводят пациенту последовательно.

29. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором у пациента есть рак.

30. Способ по п. 29, в котором раком является гематологическая злокачественная опухоль.

31. Способ по п. 30, в котором гематологической злокачественной опухолью является лейкоз, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома или миелома.

32. Способ по п. 29, в котором раком является солидная опухоль.

33. Способ по п. 29, в котором раком является меланома, мелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, плоскоклеточный рак головы и шеи, рак яичников, рак толстого кишечника, почечноклеточный рак, карцинома из клеток Меркеля, фибросаркома, глиосаркома или глиобластома.

34. Способ по любому из пп. 29-33, дополнительно включающий применение для

пациента лучевой терапии или введение по меньшей мере одного из химиотерапевтического средства, противоопухолевого средства и антиангиогенного средства.

35. Полиспецифическое антитело, которое специфически связывается с:

- a) PD-1 человека и TIM-3 человека;
- b) PD-1 человека и LAG-3 человека; или
- c) PD-1 человека, TIM-3 человека и LAG-3 человека.

36. Полиспецифическое антитело по п. 35, содержащее антигенсвязывающую часть антитела против PD-1 как определено в любом из пп. 1 и 3-8, антигенсвязывающую часть антитела против TIM-3 как определено в любом из пп. 9-15 и/или антигенсвязывающую часть антитела против LAG-3 как определено в любом из пп. 16-22.

37. Фармацевтическая композиция, содержащая (1) антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть как определено в любом из пп. 1 и 3-8, (2) антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть и/или антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть и (3) фармацевтически приемлемое вспомогательное средство.

38. Фармацевтическая композиция по п. 37, в которой антителом против TIM-3 является антитело против TIM-3 как определено в любом из пп. 9-15.

39. Фармацевтическая композиция по п. 37 или 38, в которой антителом против LAG-3 является антитело против LAG-3 как определено в любом из пп. 16-22.

40. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-39, в которой антитела в композиции представлены в равных количествах.

41. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-40, содержащая:

a) антитело против PD-1, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 228-233, соответственно; антитело против TIM-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 8-13, соответственно; и антитело против LAG-3, H-CDR1-3 и L-CDR1-3 которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 318-323, соответственно;

b) антитело против PD-1, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 227, соответственно; антитело против TIM-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 4, соответственно; и антитело против LAG-3, VH и VL которого содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 316 и 317, соответственно; или

c) антитело против PD-1, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 226 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 227 и 379; антитело против TIM-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 7 и 377, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 4 и 378; и антитело против LAG-3, содержащее HC, которая содержит аминокислотные последовательности

SEQ ID NO: 316 и 375, и LC, которая содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 317 и 378.

42. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 37-41 для применения при лечении пациента-человека в способе по любому из пп. 1-34.

43. Антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть, как определено в любом из пп. 1 и 3-8, для применения для усиления иммунитета у нуждающегося в этом пациента-человека в комбинации с антителом против TIM-3 или его антигенсвязывающей частью и/или антителом против LAG-3 или его антигенсвязывающей частью.

44. Антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть по п. 43, причем антителом против TIM-3 является антитело против TIM-3 по любому из пп. 9-15.

45. Антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть по п. 43 или 44, причем антителом против LAG-3 является антитело против LAG-3 по любому из пп. 16-22.

46. Антитело против PD-1 или его антигенсвязывающая часть по любому из пп. 1 и 3-8 для применения при лечении пациента-человека в способе по любому из пп. 1-34.

47. Применение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части для получения лекарственного средства для усиления иммунитета у нуждающегося в этом пациента-человека в комбинации с антителом против TIM-3 или его антигенсвязывающей частью и/или антителом против LAG-3 или его антигенсвязывающей частью, где антитело против PD-1 или антигенсвязывающая часть определены в любом из пп. 1 и 3-8.

48. Применение по п. 47, причем антителом против TIM-3 является антитело против TIM-3 по любому из пп. 9-15.

49. Применение по п. 47 или 48, причем антителом против LAG-3 является антитело против LAG-3 по любому из пп. 16-22.

50. Применение антитела против PD-1 или его антигенсвязывающей части по любому из пп. 1 и 3-8 для получения лекарственного средства для лечения пациента-человека в способе по любому из пп. 1-34.

51. Готовое изделие, содержащее антитело против PD-1 или его антигенсвязывающую часть по любому из пп. 1 и 3-8 и антитело против TIM-3 или его антигенсвязывающую часть и/или антитело против LAG-3 или его антигенсвязывающую часть, причем указанное готовое изделие подходит для усиления иммунитета у пациента.

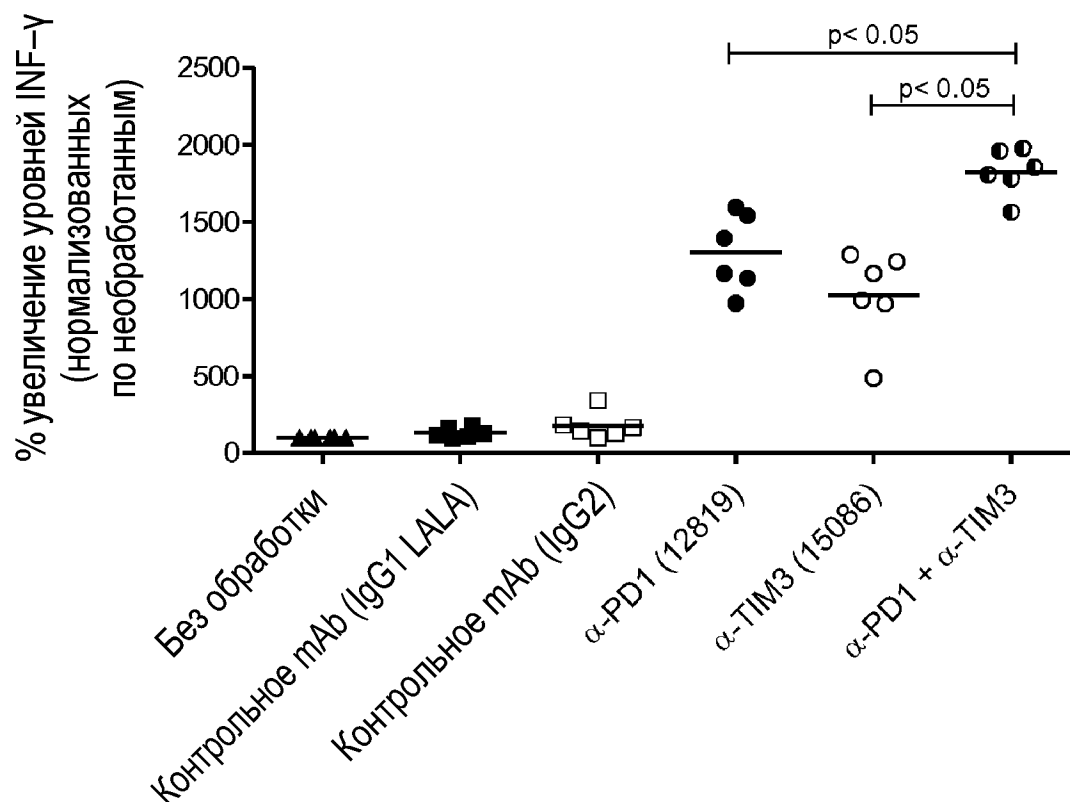
52. Готовое изделие по п. 51, в котором антителом против TIM-3 является антитело против TIM-3 по любому из пп. 9-15.

53. Готовое изделие по п. 51 или 52, в котором антителом против LAG-3 является антитело против LAG-3 по любому из пп. 16-22.

ФИГ.1

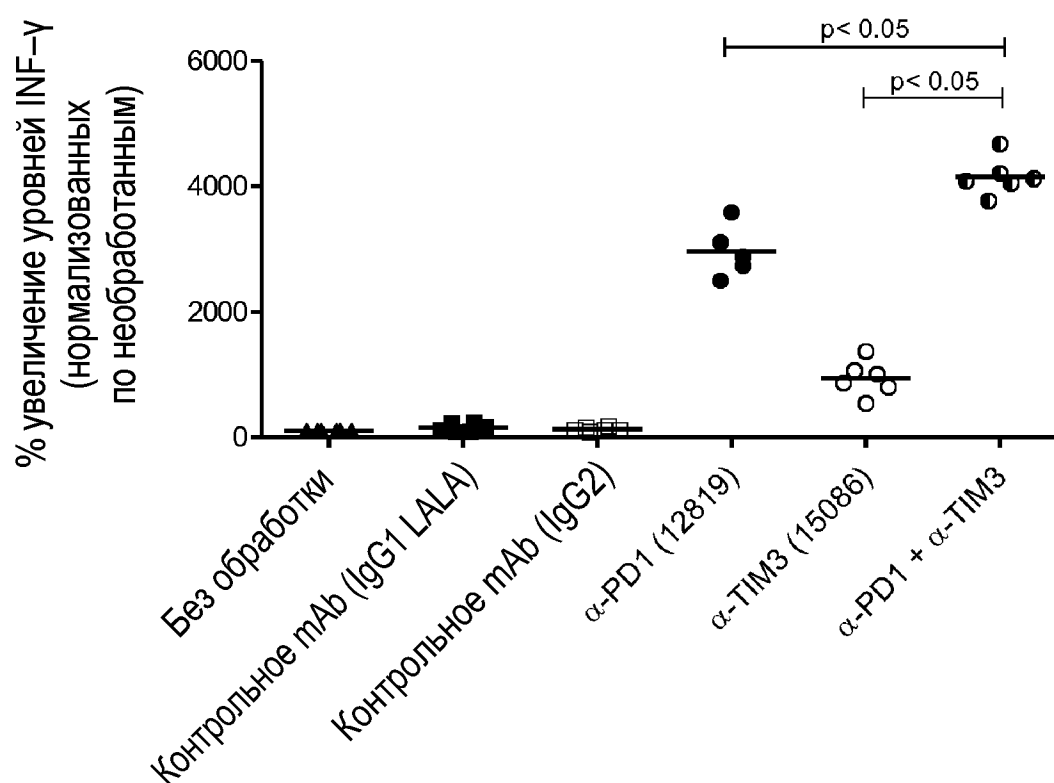
А

Однонаправленная MLR (пара 1 доноров)



В

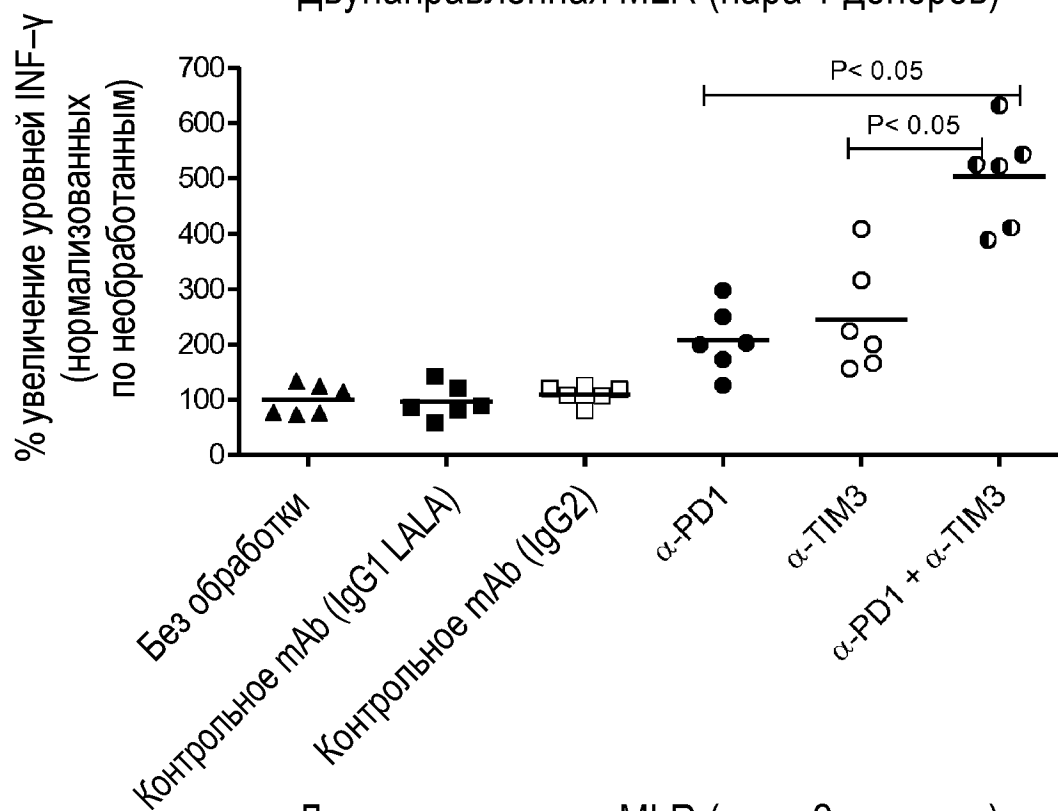
Однонаправленная MLR (пара 2 доноров)



ФИГ.2

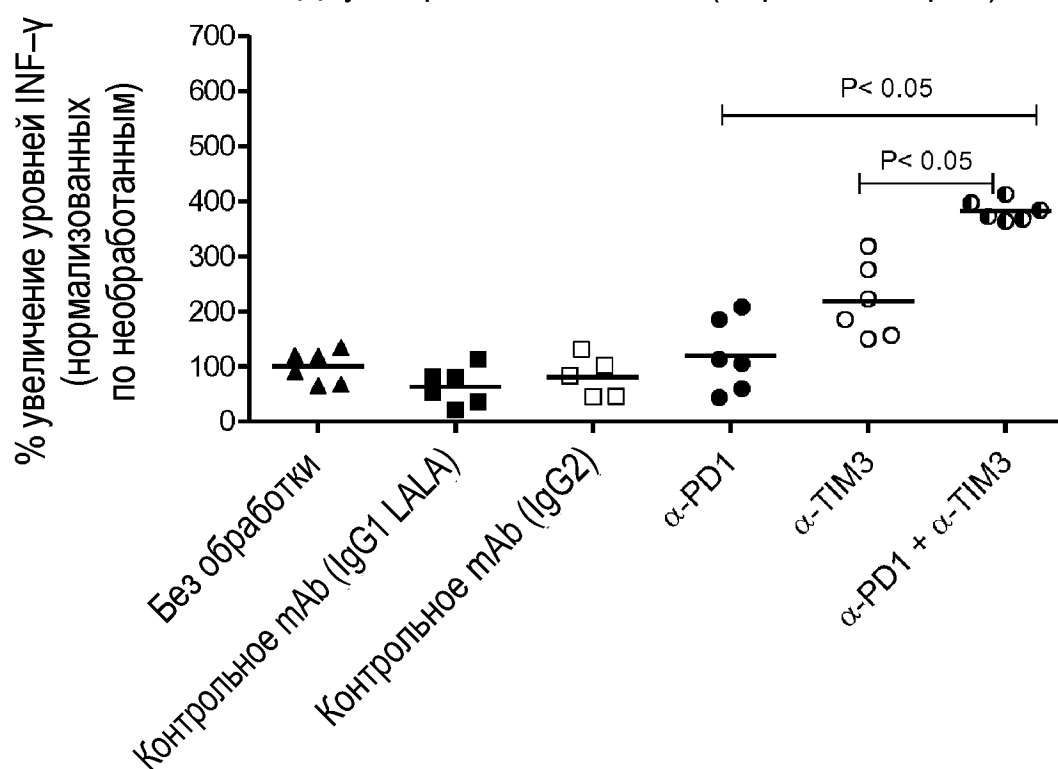
А

Двухнаправленная MLR (пара 1 доноров)



В

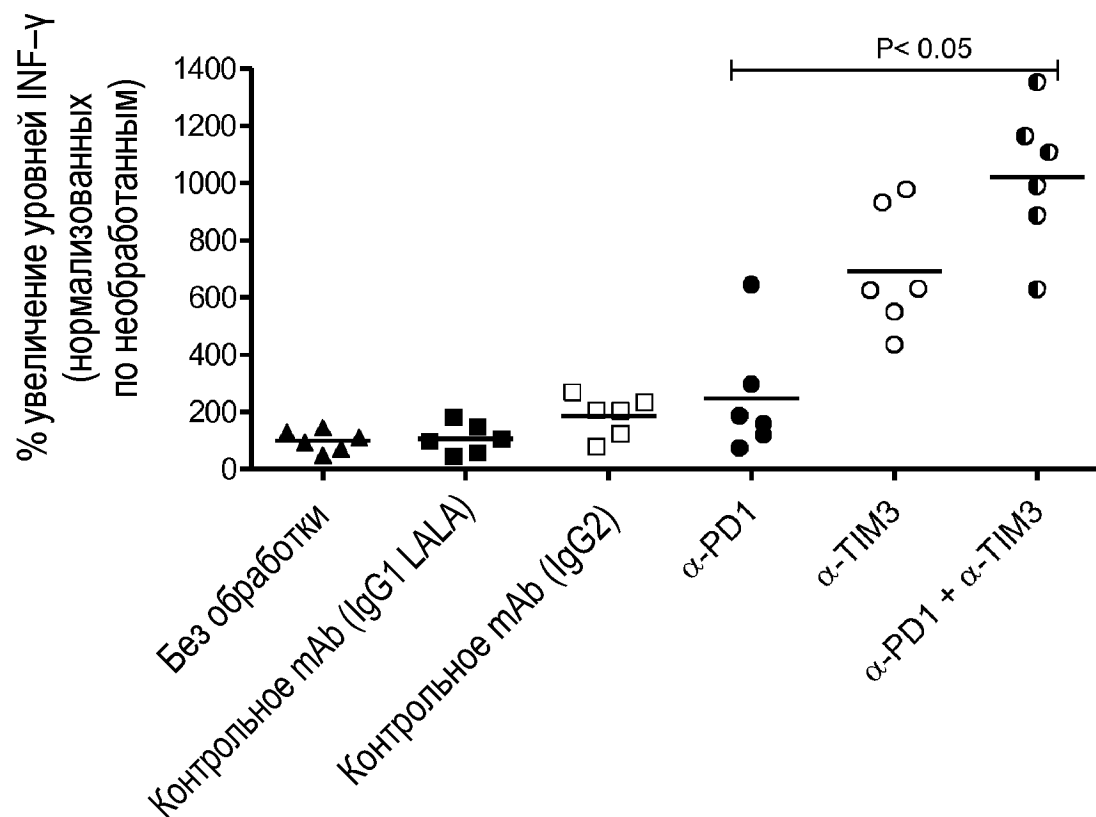
Двухнаправленная MLR (пара 2 доноров)



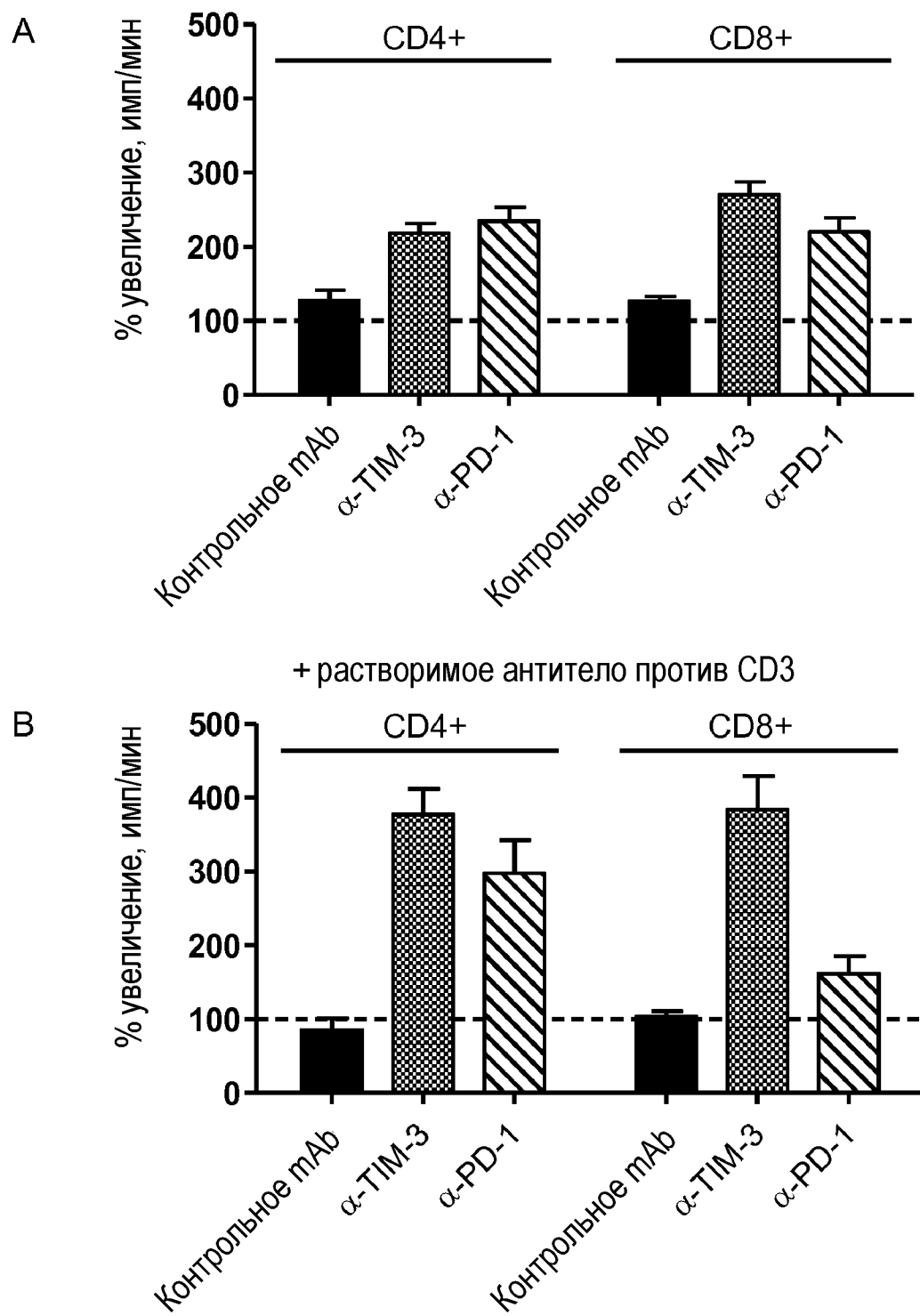
ФИГ.2 (продолжение)

С

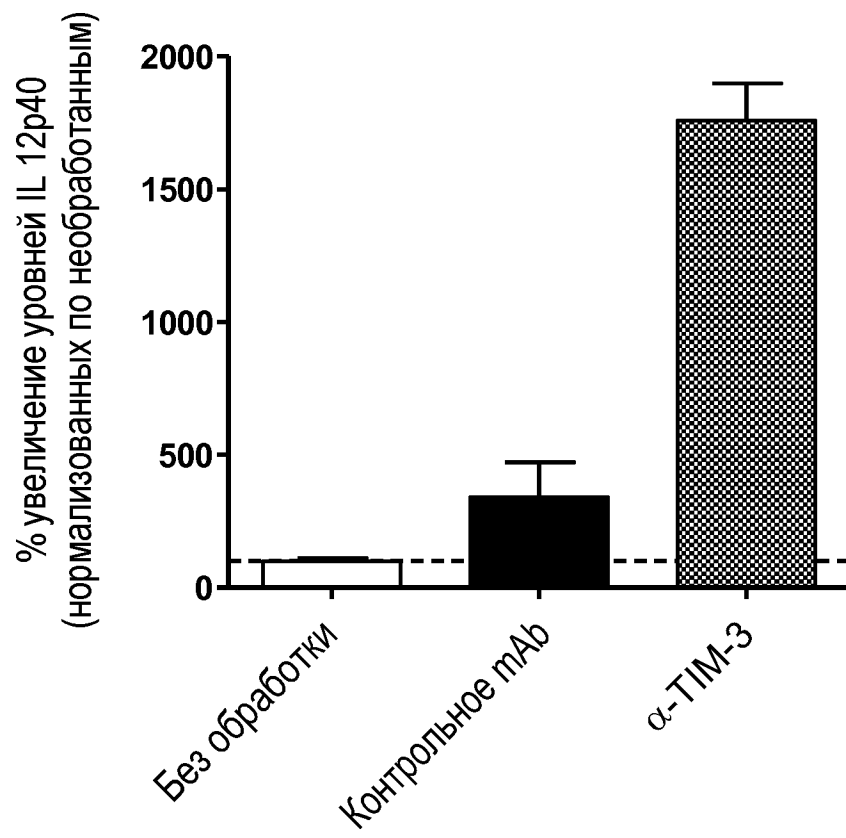
Двунаправленная MLR (пара 3 доноров)



ФИГ.3

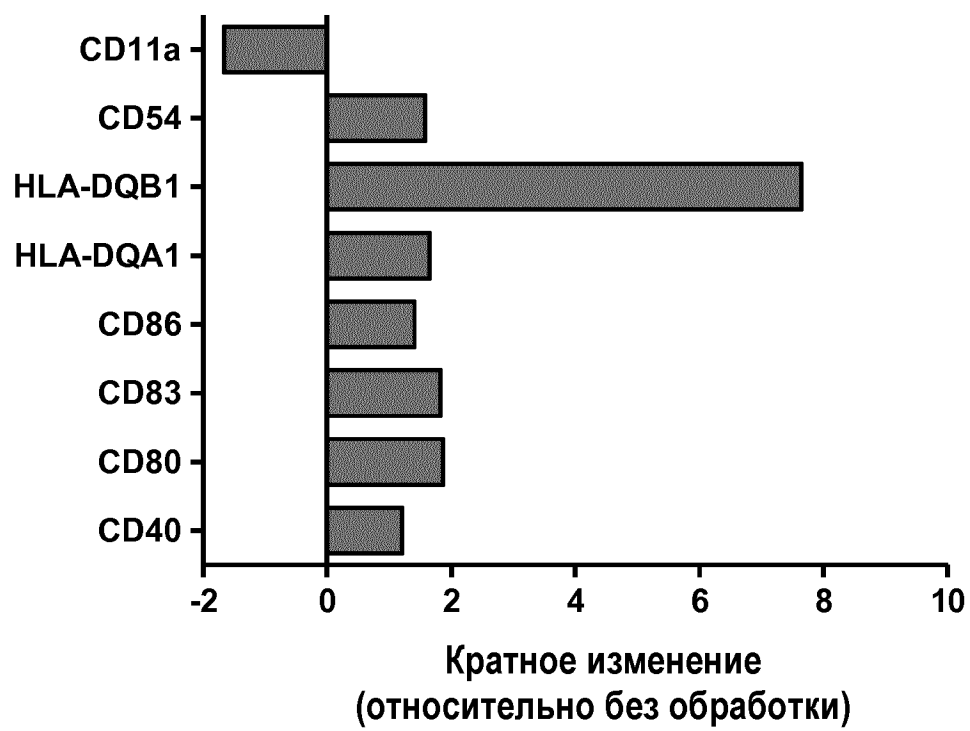


ФИГ.4



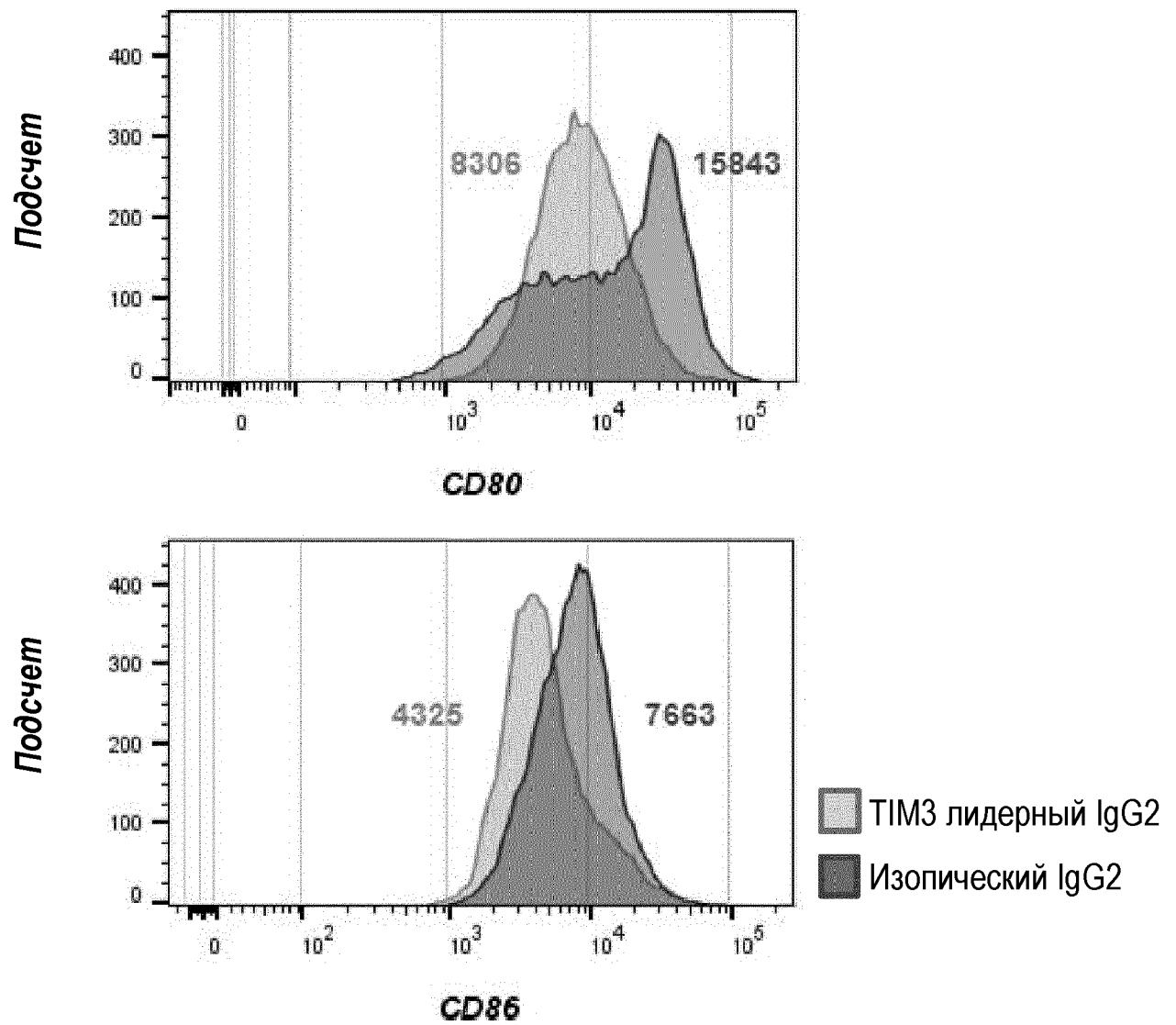
ФИГ.5

А

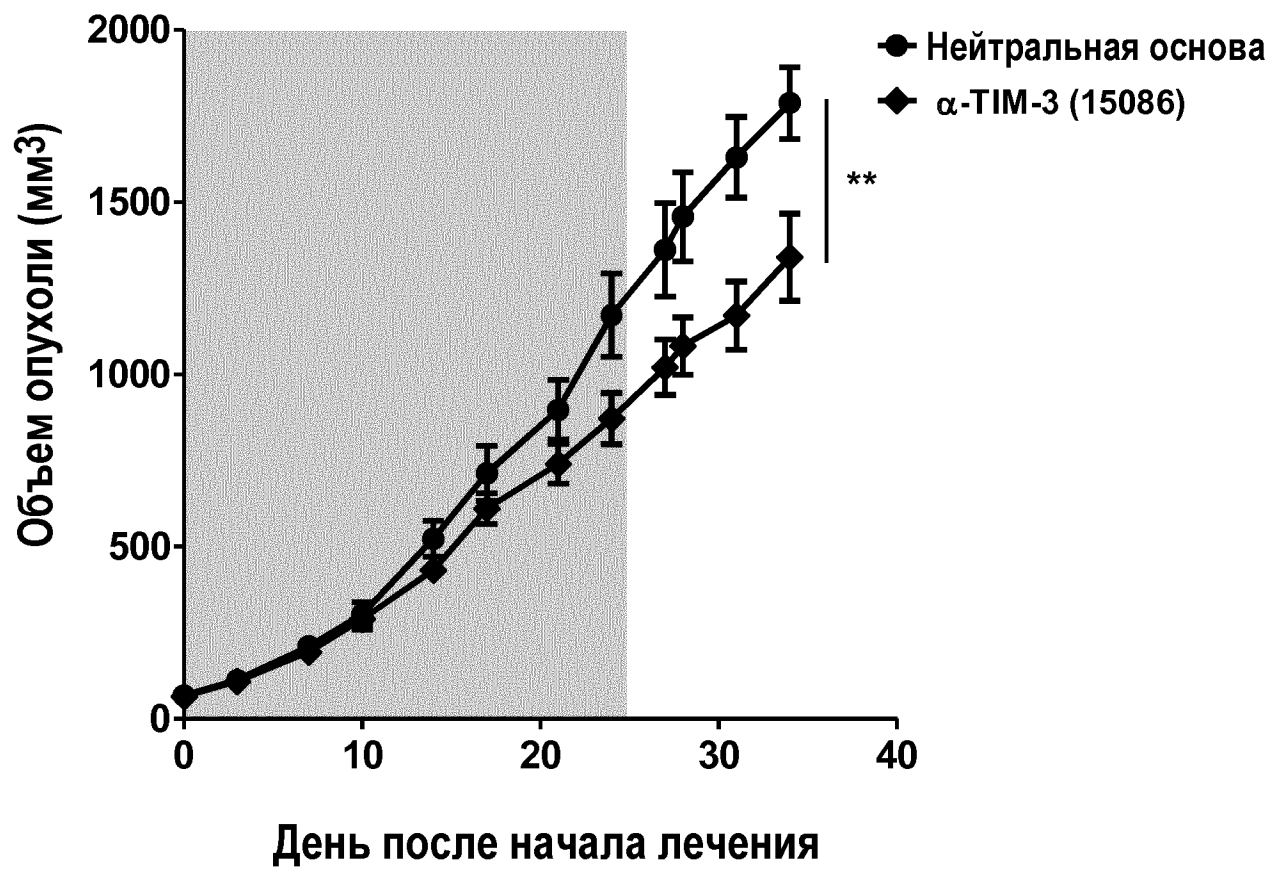


ФИГ.5 (продолжение)

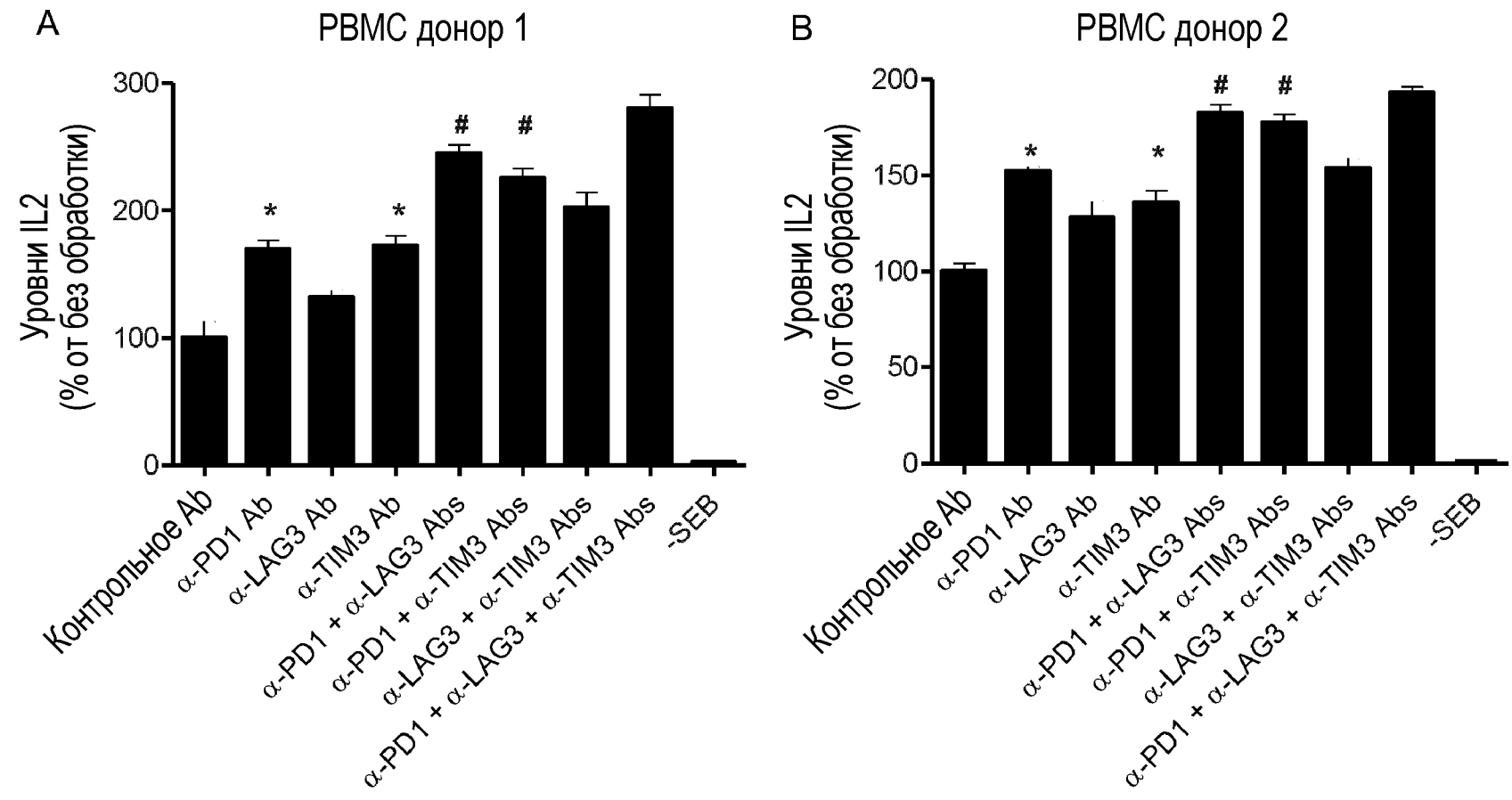
В



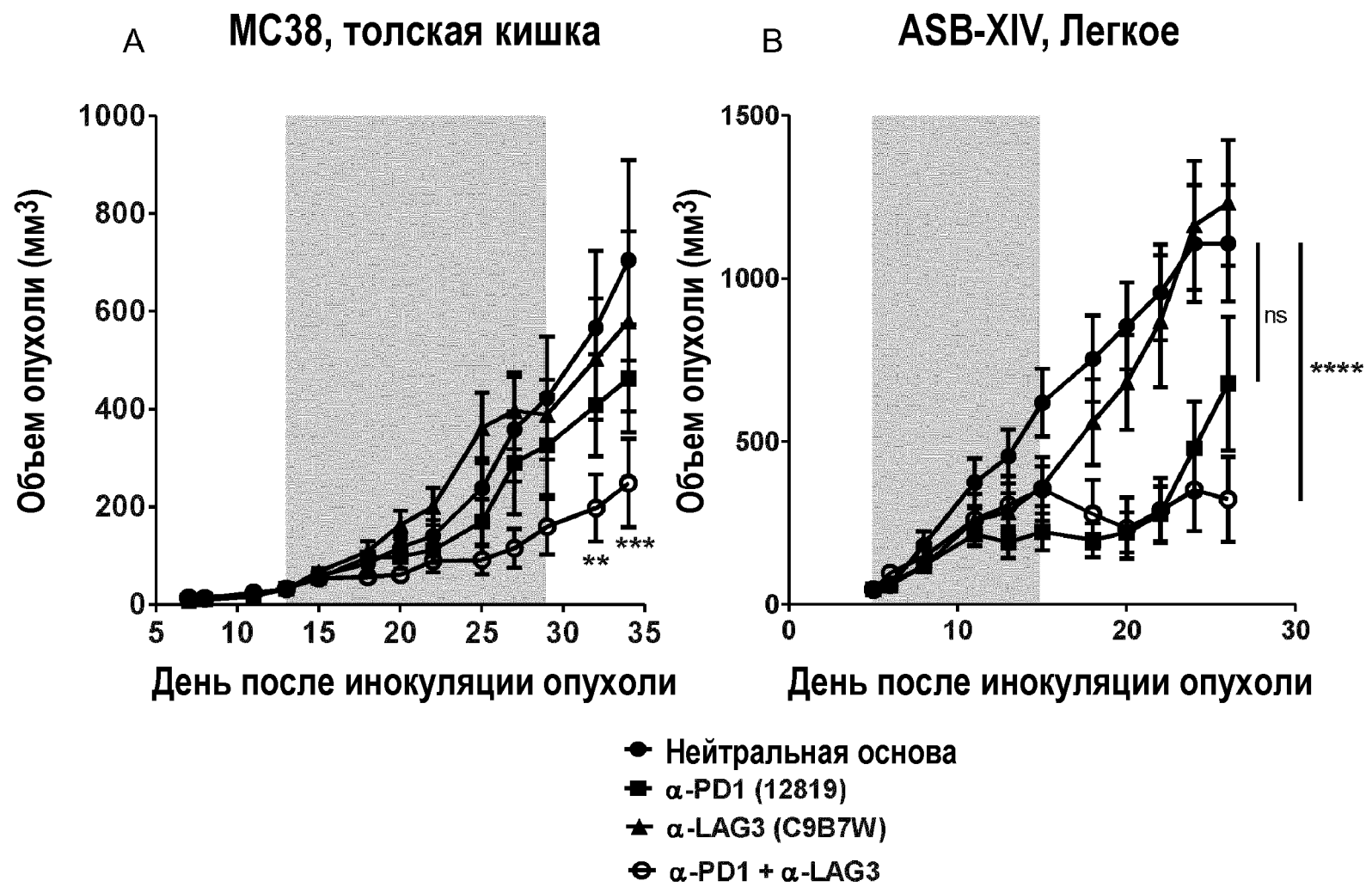
ФИГ.6



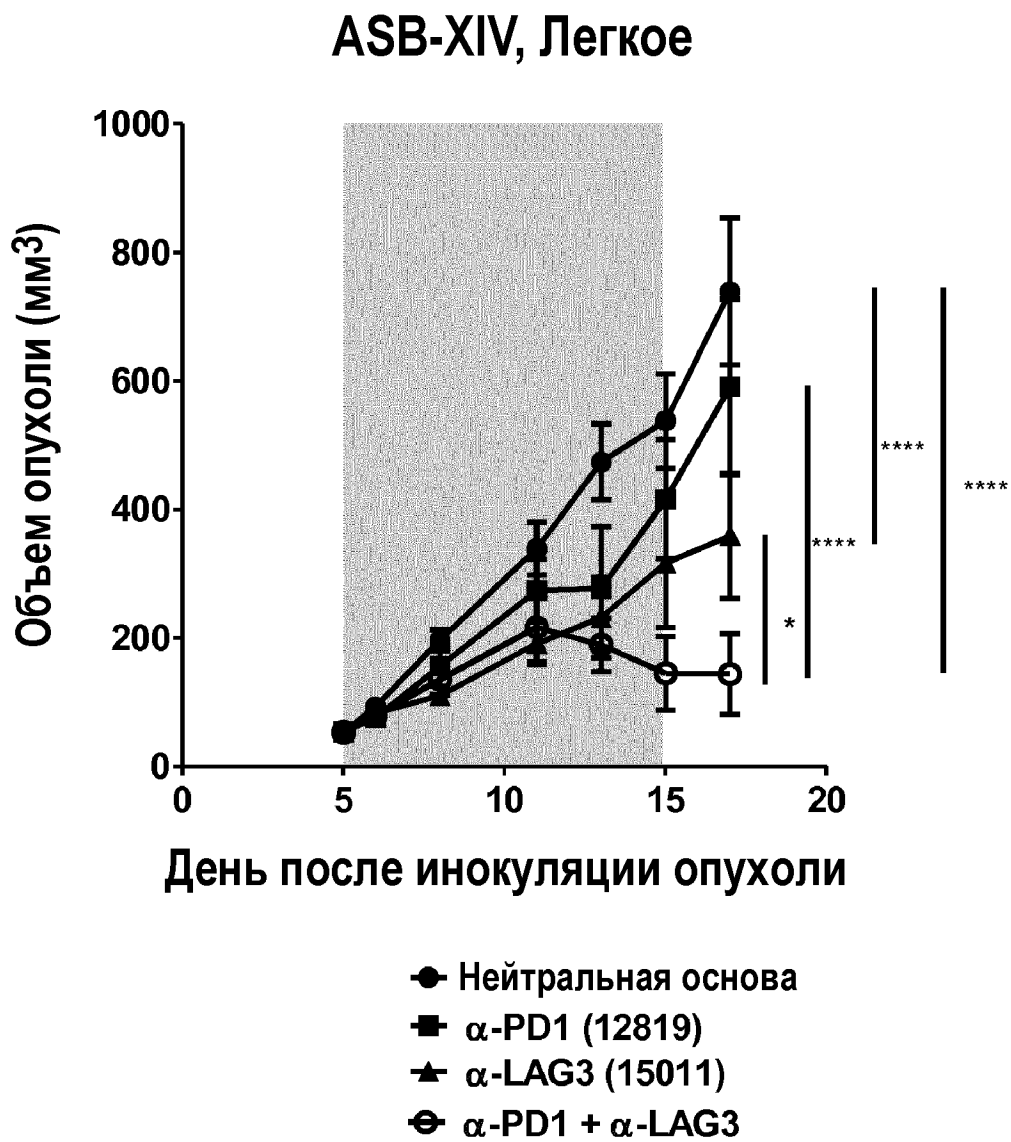
ФИГ.8



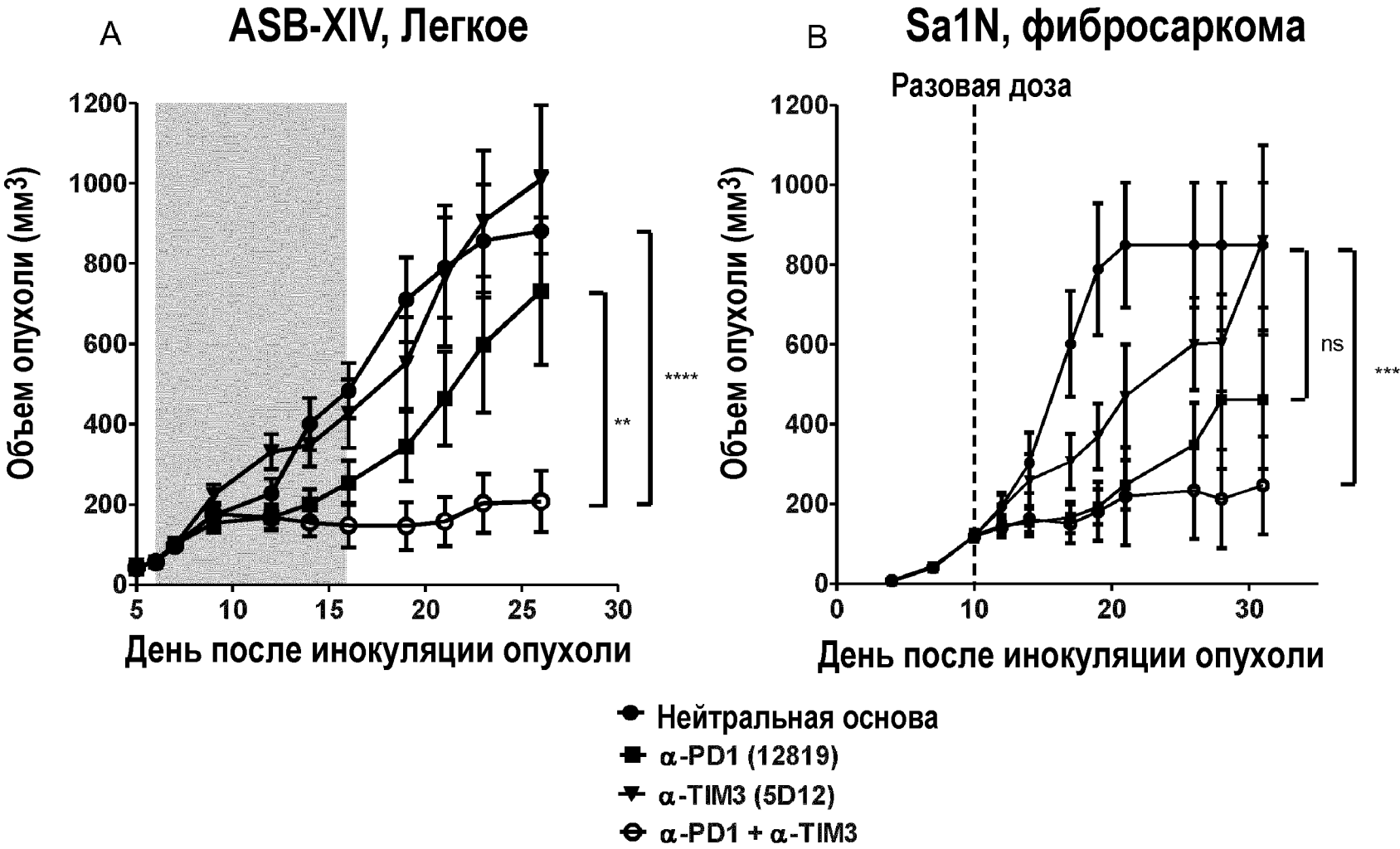
ФИГ.8



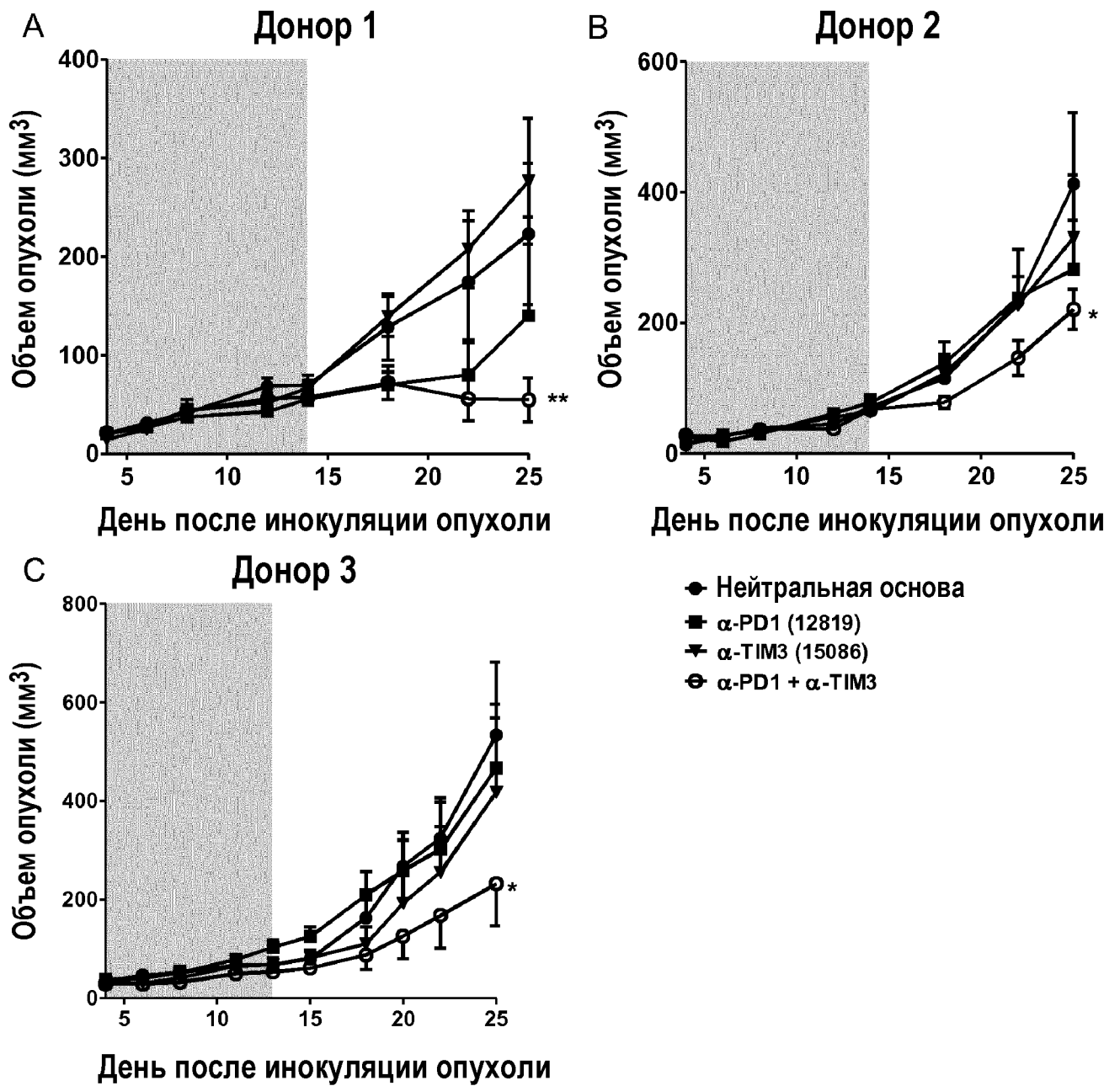
ФИГ.9



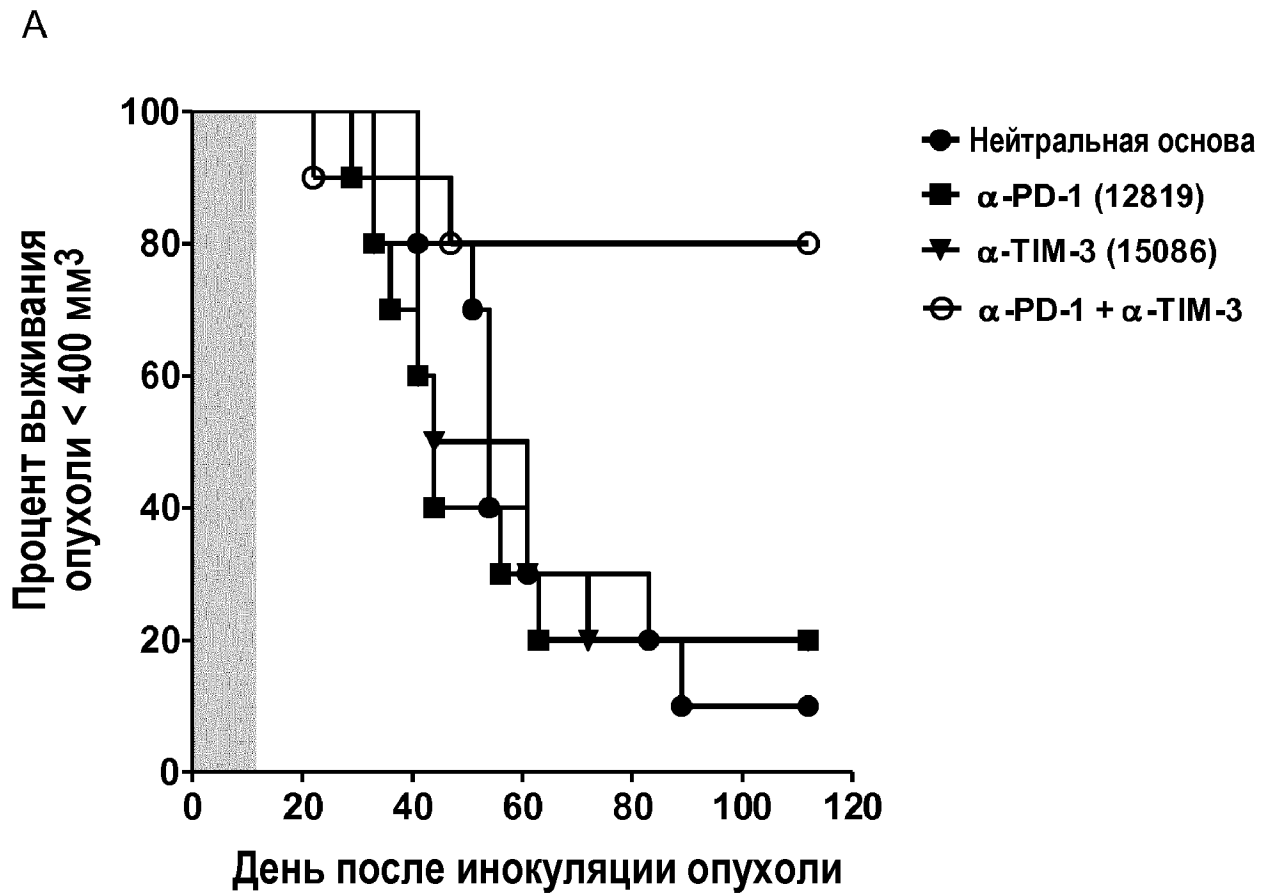
ФИГ.10



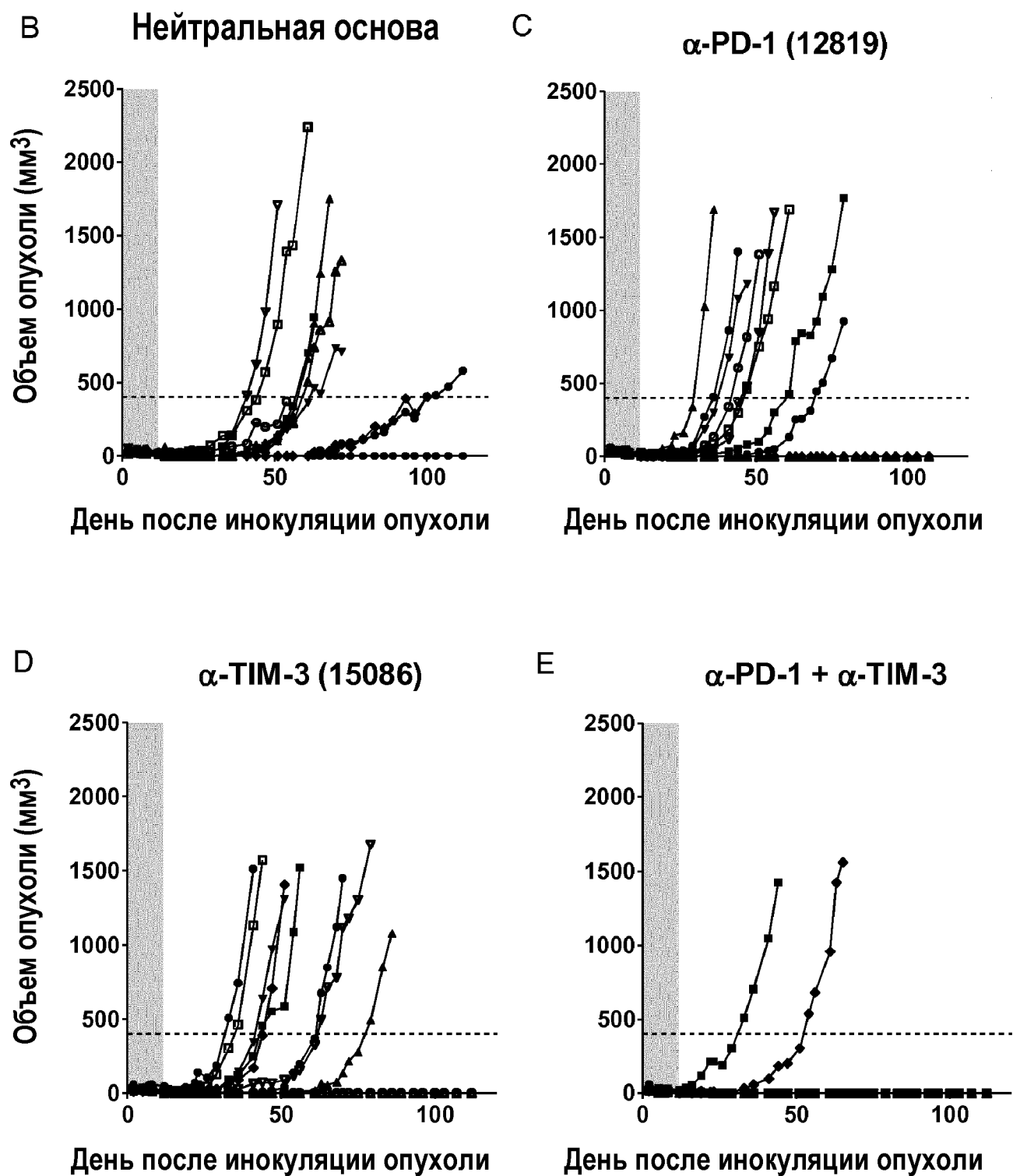
ФИГ.11



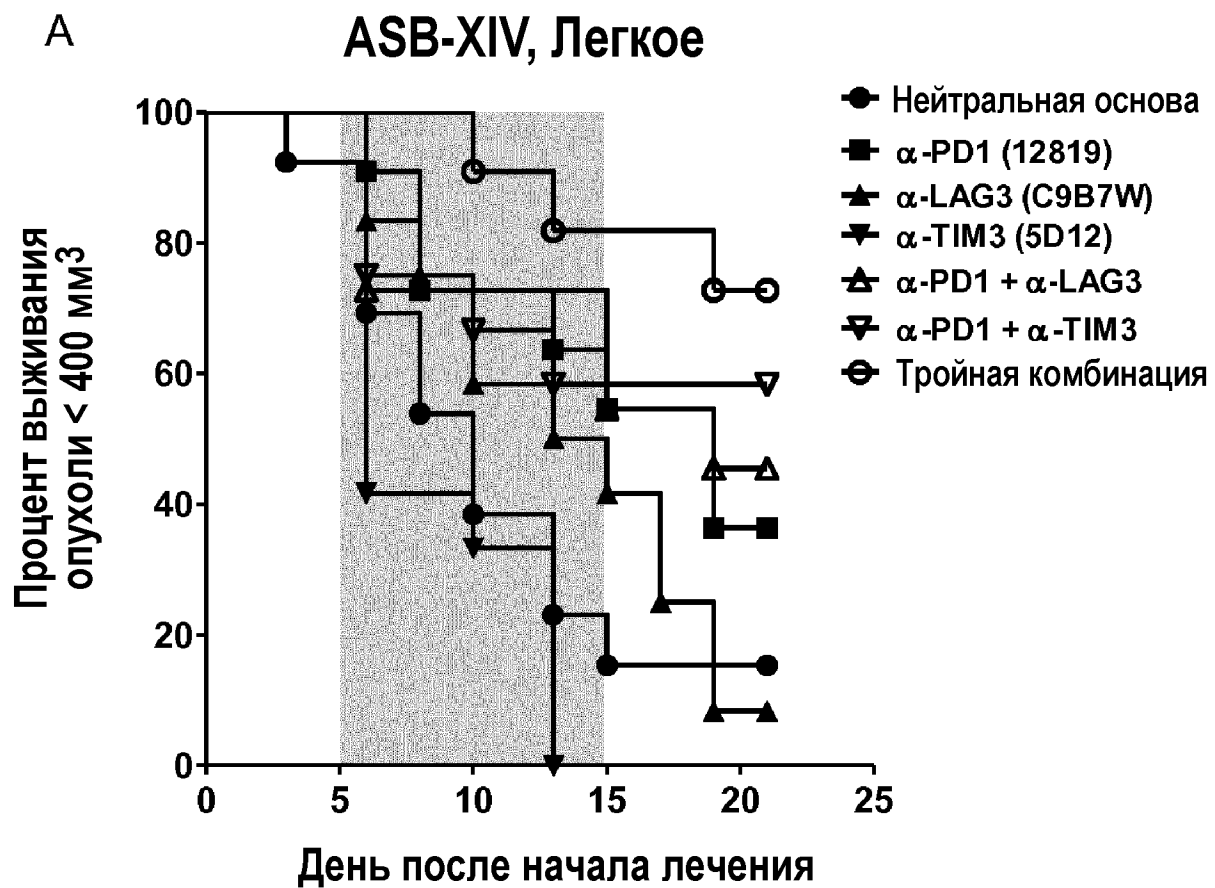
ФИГ.12



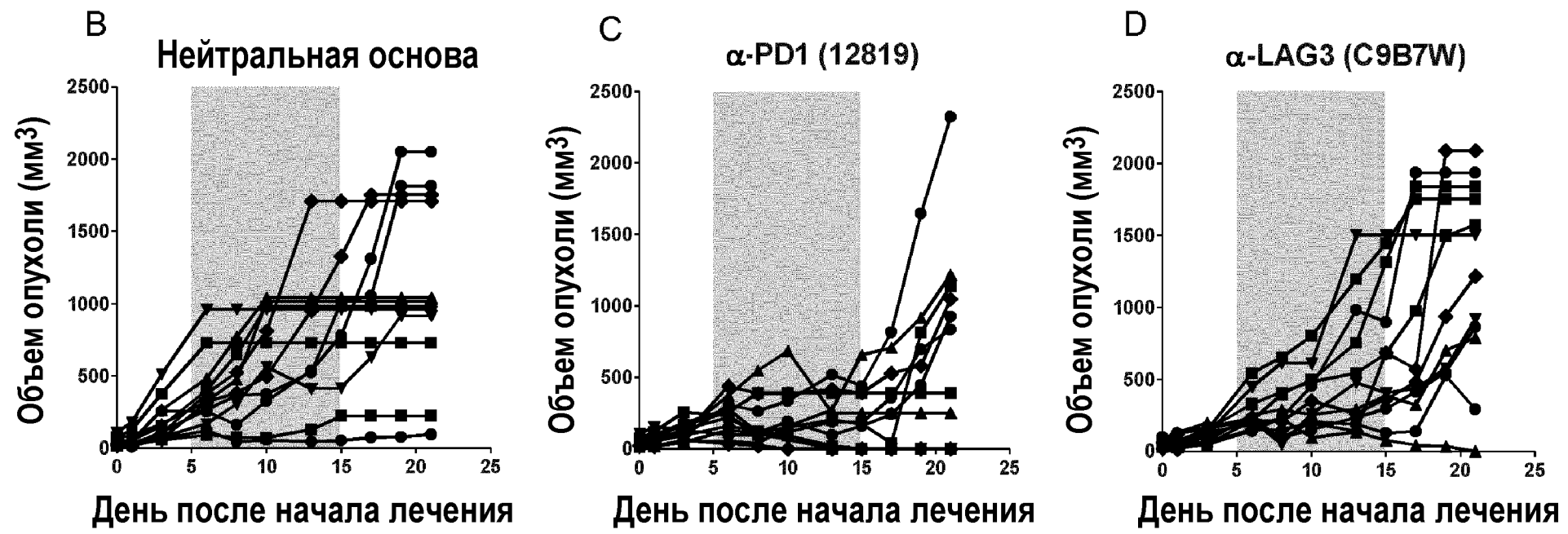
ФИГ.12



ФИГ.13



ФИГ.13 (продолжение)



ФИГ.13 (продолжение)

