

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090401** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2020.05.18

(22) Дата подачи заявки
2018.07.26

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **АНТИ-TIM-3 АНТИТЕЛА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) 62/538,277

(32) 2017.07.28

(33) US

(86) PCT/US2018/043800

(87) WO 2019/023410 2019.01.31

(71) Заявитель:
ФЕЙНЗ ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Ван Минхань, Цзоу Хой (US)

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

(57) Описаны анти-TIM-3 антитела и антигенсвязывающие фрагменты. Также описаны нуклеиновые кислоты, кодирующие эти антитела, композиции, содержащие антитела, и способы получения антител и применения антител для лечения или профилактики заболеваний, таких как рак, воспалительное заболевание, аутоиммунное заболевание, нарушения метаболизма и/или инфекционные заболевания.

A1

202090401

202090401

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-560754EA/032

АНТИ-TIM-3 АНТИТЕЛА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке на патент США 62/538,277, поданной 28 июля 2017 года. Раскрытие этой заявка включено в настоящее описание во всей полноте в качестве ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Настоящее изобретение относится к моноклональным анти-TIM-3 антителам, нуклеиновым кислотам и векторам экспрессии, кодирующим эти антитела, рекомбинантным клеткам, содержащим эти векторы, и композициям, содержащим указанные антитела. Также предложены способы получения антител и способы применения этих антител для лечения заболеваний, включая рак, воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, инфекционные заболевания, нарушения метаболизма (например, ожирение, резистентность к инсулину и диабет) и/или связанные с ними осложнения.

ССЫЛКА НА СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРЕДСТАВЛЕННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОЙ ВЕРСИИ

[0003] Настоящая заявка содержит список последовательностей, который представлен в электронном виде через EFS-Web в виде списка последовательностей в формате ASCII с названием файла «689204.3WO Sequence Listing» и датой создания файла 25 июля 2018 года размером 78 кБ. Список последовательностей, представленный через EFS-Web, является частью описания и полностью включен в настоящее описание в качестве ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Молекула 3, содержащая Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина (TIM-3), представляет собой рецептор, экспрессируемый на миелоидных клетках, включая дендритные клетки (DC), макрофаги и NK-клетки, и подмножество лимфоидных клеток, таких как Т-клетки. Описанные лиганды для TIM-3 включают галектин-9 (Gal-9), фосфатидилсерин (PtdSer) и белок В1 группы высокой подвижности (HMGB1). Связывание Gal-9 и PtdSer опосредовано варибельным доменом иммуноглобулина (IgV) TIM-3. Для связывания Gal-9, но не для PtdSer, требуется гликозилирование IgV. Взаимодействуя с этими лигандами, TIM-3 модулирует как врожденный, так и адаптивный иммунитет. HMGB1 также играет важную роль в хроническом воспалении жировой ткани при ожирении, что позволяет предположить возможное участие TIM-3 в изменениях обмена веществ, связанных с воспалением.

[0005] На поверхности миелоидных клеток высокий уровень экспрессии TIM-3 ингибирует продуцирование цитокинов из макрофагов и DC. Ингибирование можно обратить путем стимуляции Т-клеток и, аналогично, путем блокирования моноклональных антител. В опухолях защищающие рак и стимулирующие его развитие

макрофаги M2 связаны с высоким уровнем экспрессии TIM-3, тогда как борющиеся с раком макрофаги M1 связаны с низким уровнем экспрессии TIM-3. Остается показать, возможно ли путем блокирования TIM-3 моноклональных антител превратить M2 в макрофаги M1, поглощающие раковые клетки.

[0006] На поверхности Т-клеток TIM-3 модулирует адаптивный иммунитет путем взаимодействия с лигандом Gal-9. TIM-3 экспрессируется на CD4⁺ хелперных (Th1 и Th17), регуляторных (Treg) и CD8⁺ цитотоксических 1 (Tc1) Т-клетках. Постоянное связывание TIM-3 с Gal-9 индуцирует апоптоз клеток Th1, подавляя иммунный ответ и его продолжительность. Поверхностная экспрессия или, возможно функция, TIM-3 зависит от связывания с CEACAM1 как в цис, так и в транс положении. Примечательным является то, что TIM-3 обычно обнаруживают на CD8⁺ Т-клетках, экспрессирующих иммуносупрессивный PD-1. Было высказано предположение, что TIM-3 и PD-1 являются ко-супрессорами, приводящими к дисфункциональным внутриопухолевым Т-клеткам. Это делает антагонистическое антитело к TIM-3 потенциально сильным терапевтическим средством, применяемым отдельно и в комбинации с PD-1/PDL-1 и/или другой иммуноонкологической терапией.

[0007] В дополнение к модуляции иммунных клеток TIM-3 также является высоко экспрессируемым на лейкозных стволовых клетках (LSC) при остром миелобластном лейкозе (AML). На LSC TIM-3 и Gal-9 образуют аутокринно-стимулирующую петлю для управления путями самообновления раковых LSC и прогрессирования лейкемии. Интересным оказалось то, что TIM-3 не присутствует на поверхности гемопоэтических стволовых клеток (HSC), что дает возможность лечить AML и другие заболевания миелолейкоза с помощью блокирующего/истощающего/цитотоксического терапевтического анти-TIM-3 антитела.

[0008] TIM-3 модулирует активность клеток как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Моноклональное антитело, блокирующее TIM-3, обладает способностью освобождать иммунную систему с помощью уникальных механизмов уничтожения раковых клеток.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0009] Согласно одному общему аспекту, изобретение относится к выделенным моноклональным антителам или их антигенсвязывающим фрагментам, которые связываются с TIM-3.

[0010] Предлагаются выделенные моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, содержащие определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

- (1) SEQ ID NO: 43, 44, 169, 106, 107 и 170, соответственно;
- (2) SEQ ID NO: 55, 56, 57, 118, 119 и 120, соответственно;
- (3) SEQ ID NO: 58, 59, 60, 121, 122 и 123, соответственно;

- (4) SEQ ID NO: 61, 62, 63, 124, 125 и 126, соответственно;
- (5) SEQ ID NO: 64, 65, 66, 127, 128 и 129, соответственно;
- (6) SEQ ID NO: 67, 68, 69, 130, 131 и 132, соответственно;
- (7) SEQ ID NO: 70, 71, 72, 133, 134 и 135, соответственно;
- (8) SEQ ID NO: 73, 74, 75, 136, 137 и 138, соответственно;
- (9) SEQ ID NO: 76, 77, 78, 139, 140 и 141, соответственно;
- (10) SEQ ID NO: 79, 80, 81, 142, 143 и 144, соответственно;
- (11) SEQ ID NO: 82, 83, 84, 145, 146 и 147, соответственно;
- (12) SEQ ID NO: 85, 86, 87, 148, 149 и 150, соответственно;
- (13) SEQ ID NO: 88, 89, 90, 151, 152 и 153, соответственно;
- (14) SEQ ID NO: 91, 92, 93, 154, 155 и 156, соответственно;
- (15) SEQ ID NO: 94, 95, 96, 157, 158 и 159, соответственно;
- (16) SEQ ID NO: 97, 98, 99, 160, 161 и 162, соответственно;
- (17) SEQ ID NO: 100, 101, 102, 163, 164 и 165, соответственно; или
- (18) SEQ ID NO: 103, 104, 105, 166, 167 и 168, соответственно;

причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с TIM-3, предпочтительно человеческим TIM-3. SEQ ID NO: 169 представлена аминокислотной последовательностью $ARDX_1X_2DY$, где X_1 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, T и L, и где X_2 представляет собой аминокислоту, выбранную из M и E. SEQ ID NO: 170 представлена аминокислотной последовательностью $SQX_1X_2HVPX_3T$, где X_1 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из N, T и S, X_2 представляет собой аминокислоту, выбранную из T и I, и X_3 представляет собой аминокислоту, выбранную из W и Y.

[0011] В некоторых вариантах осуществления выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 или 41, или переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 или 42.

[0012] В некоторых вариантах осуществления выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2;

(b) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 3, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 4;

(c) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 5, и переменную область легкой цепи, имеющую

(q) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 33, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 34;

(r) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 35, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 36;

(s) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 37, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 38;

(t) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 39, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 40

(u) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 41, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 42.

[0013] В некоторых вариантах осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным.

[0014] В некоторых вариантах осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является человеческим или гуманизированным.

[0015] В некоторых вариантах осуществления гуманизированное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 171, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 175;

(b) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 172, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 175;

(c) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 173, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 176; или

(d) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 174, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 176.

[0016] В некоторых вариантах осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способно блокировать связывание TIM-3 с фосфатидилсеринем (PtdSer), TIM-3 с галектином-9 (Gal-9), TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1) и/или TIM-3 с белком В1 группы высокой подвижности (HMGB1).

[0017] Также предлагаются выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие

моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты по изобретению, раскрытые в настоящем описании.

[0018] Также предлагаются векторы, содержащие выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты по изобретению.

[0019] Также предлагаются клетки-хозяева, содержащие векторы, содержащие выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты по изобретению.

[0020] В некоторых вариантах осуществления предлагается фармацевтическая композиция, содержащая выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

[0021] Также предлагаются способы блокирования связывания TIM-3 с фосфатидилсеринем (PtdSer), TIM-3 с галектином-9 (Gal-9), TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1) и/или TIM-3 с белком В1 группы высокой подвижности (HMGB1) у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение субъекту фармацевтических композиций по изобретению.

[0022] Также предлагаются способы лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение субъекту фармацевтических композиций по изобретению. Рак может представлять собой любой вид гемобластоза или солидного рака, например, он может быть выбран, без ограничения, из рака легкого, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточного рака, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (НХЛ), острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфобластного лейкоза (CLL), хронического миелогенного лейкоза (СМЛ), множественной миеломы (ММ), острого миелоидного лейкоза (AML) и других видов гемобластоза.

[0023] Также предлагаются способы лечения инфекционного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

[0024] Также предлагаются способы лечения воспалительного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение субъекту фармацевтических композиций по изобретению.

[0025] Также предлагаются способы лечения аутоиммунного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение субъекту фармацевтических композиций по изобретению.

[0026] Также предлагаются способы лечения нарушения метаболизма у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение субъекту фармацевтических

композиций по изобретению.

[0027] Также предлагаются способы получения моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по изобретению, включающие культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент, в условиях для продуцирования моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента, и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

[0028] Также предлагаются способы получения фармацевтической композиции, содержащей моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению, включающие объединение моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем для получения фармацевтической композиции.

[0029] Также предлагаются способы определения уровня TIM-3 у субъекта. Способы включают (а) получение образца от субъекта; (b) приведение образца в контакт с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по изобретению; и (с) определение уровня TIM-3 у субъекта. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец ткани или крови. Образец ткани может представлять собой, например, образец раковой ткани. Образец крови может содержать, например, раковые клетки.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0030] Приведенная выше сущность изобретения, а также приведенное ниже подробное описание предпочтительных вариантов осуществления настоящей заявки будет лучше понято при изучении со ссылкой на прилагаемые чертежи. Однако следует понимать, что применение не ограничивается конкретными вариантами осуществления, показанными на чертежах.

[0031] На фиг. 1 показано ингибирование моноклональными анти-TIM-3 антителами (mAb) связывания человеческого TIM-3 с PtdSer. Планшеты ELISA покрывали PtdSer или PtdChol, промывали и инкубировали с предварительно уравновешенной смесью очищенных антител в различных концентрациях с TIM3(ECD)huFc. Планшеты промывали, и затем детектировали сигнал путем инкубации с HRP-связанным вторичным анти-huFc антителом, а затем с субстратом HRP. Для вычисления процента ингибирования данным mAb связывание TIM-3 с PtdSer использовали в качестве 100% сигнала, а связывание TIM-3 с PtdChol в качестве нулевого (фонового) сигнала. На фиг.1А показан график ингибирования анти-TIM-3 антителами 20-L10-A, 16-K5-A, 15-L23-A и 2-K2-A связывания человеческого TIM-3 с PtdSer. На фиг.1В показан график ингибирования анти-TIM-3 антителами 12-G18-A, 5-C11-A и 19-A14-A связывания человеческого TIM-3 с PtdSer. На фиг.1С показан график ингибирования анти-TIM-3 антителами 10-M21-A, 18-N1-A и 16-L3-A связывания человеческого TIM-3 с PtdSer. На фиг. 1D показан график ингибирования анти-TIM-3 антителами 12-M11-A, 5-K4-A и 16-J5-A связывания человеческого TIM-3 с PtdSer. На фиг. 1E показан график ингибирования анти-TIM-3 антителами 7-P15-A, 8-F3-A, 10-O15-A и 18-O22-A связывания человеческого TIM-3 с

PtdSer. На фиг. 1F показан график ингибирования анти-TIM-3 антителами 6-I13-A, 6-H6-A и 7-N2-A связывания человеческого TIM-3 с PtdSer.

[0032] Фиг. 2 показан FACS анализ связывания анти-TIM-3 mAb. Связывание очищенных анти-TIM-3 mAb с клетками НЕК293, временно трансфицированными человеческим TIM-3 (обозначенными как «клетки HuTIM-3»), или родительскими клетками НЕК293 (обозначенными как «клетки CTL»), проверяли с помощью FACS анализа в 3 различных концентрациях. Для обнаружения использовали вторичное анти-мышинное Ab AlexaFluor488.

[0033] На фиг.3А и 3В показан результат связывания химерной и гуманизированной версий mAb 16-K5-A с рекомбинантным человеческим TIM-3(ECD)-6His, иммобилизованным на планшете, в анализе ELISA.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0034] В разделе «Уровень техники» и в описании приведены ссылки и описаны различные публикации, статьи и патенты; каждый из этих документов включен в настоящее описание во всей своей полноте в качестве ссылки. Обсуждение документов, актов, материалов, устройств, статей или т.п., включено в настоящее описание для раскрытия контекста настоящего изобретения. Такое обсуждение не является признанием того, что каждый из обсуждаемых вопросов являются частью предшествующего уровня техники, относящегося к любому раскрытому или заявленному изобретению.

[0035] Если не указано иное, все технические и научные термины, которые используются в настоящем описании, имеют те же самые значения, как их обычно понимают специалисты в области техники, к которой относится настоящее изобретение. В противном случае определенные термины, используемые в настоящей заявке, имеют значения, указанные в описании.

[0036] Следует отметить, что используемые в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают множественное число, если из контекста в явном виде не следует иное.

[0037] Если не указано иное, любые числовые значения, такие как концентрация или диапазон концентраций, описанные в настоящей заявке, во всех случаях следует рассматривать как модифицированные термином «примерно». Таким образом, числовое значение обычно включает $\pm 10\%$ от указанного значения. Например, концентрация 1 мг/мл включает от 0,9 до 1,1 мг/мл. Аналогично, диапазон концентраций от 1% до 10% (мас./об.) включает от 0,9% (мас./об.) до 11% (мас./об.). В контексте настоящего описания, использование числового диапазона в явном виде включает все возможные поддиапазоны, все отдельные числовые значения в этом диапазоне, включая целые числа и дробные значения в таких диапазонах, если из контекста в явном виде не следует иное.

[0038] Если не указано иное, термин «по меньшей мере», предшествующий серии элементов, следует понимать как относящийся к каждому элементу серии. Специалистам в данной области будет понятно, или они смогут определить при помощи обычных общепринятых экспериментов, множество вариантов осуществления изобретения,

эквивалентных раскрытым в настоящем описании. Такие эквиваленты входят в объем настоящего изобретения.

[0039] Используемые в настоящем описании термины «содержит», «содержащий», «включает», «включающий», «имеет», «имеющий», «имеет в составе» или «имеющий в составе» или любой другой их вариант, означают включение указанного целого числа или группы целых чисел, а не исключение какого-либо другого целого числа или группы целых чисел, и их следует понимать как неисключающие или открытые. Например, композиция, смесь, процесс, способ, изделие или устройство, которое содержит список элементов, не обязательно ограничено только этими элементами, но могут включать другие элементы, не перечисленные в явном виде или присущие такой композиции, смеси, процессу, способу, изделию или устройству. Кроме того, если в явном виде не указано иное, союз «или» относится к включающему «или», а не исключающему «или». Например, условие А или В удовлетворяется любым из следующих условий: А является истинным (или присутствует), а В является ложным (или не присутствует), А является ложным (или не присутствует), а В является истинным (или присутствует), и оба А и В верны (или присутствуют).

[0040] Используемый в настоящем описании термин «и/или» между несколькими перечисленными элементами следует понимать как охватывающий как отдельные, так и объединенные варианты. Например, когда два элемента соединены союзом «и/или», первый вариант относится к возможности применения первого элемента без второго. Второй вариант относится к возможности применения второго элемента без первого. Третий вариант относится к возможности применения первого и второго элементов вместе. Все эти варианты входят в объем указанного значения и, следовательно, удовлетворяют требованию термина «и/или», используемого в настоящем описании. Понятно, что возможность одновременного применения более чем одного из указанных вариантов соответствует указанному значению и, следовательно, удовлетворяет требованию термина «и/или».

[0041] В контексте настоящей заявки, термин «состоит из» или его варианты, такие как «состоят из» или «состоящий из», используемые в описании и формуле изобретения, указывают на включение любого приведенного целого числа или группы целых чисел, но при этом никакое дополнительное целое число или группа целых чисел не может быть добавлена в указанный метод, структуру или композицию.

[0042] В контексте настоящей заявки, термин «по существу состоит из» или его варианты, такие как «по существу состоят из» или «по существу состоящий из», используемый в описании и формуле изобретения, указывают на включение любого приведенного целого числа или группы целых чисел, и необязательное включение любого приведенного целого числа или группы целых чисел, которые существенно не изменяют основные или новые свойства указанного метода, структуры или композиции. См. М.Р.Е.Р. § 2111.03.

[0043] В контексте настоящего описания, термин «субъект» означает любое

животное, предпочтительно млекопитающее, наиболее предпочтительно человека. Используемый в настоящем описании термин «млекопитающее» включает любое млекопитающее. Примеры млекопитающих включают, без ограничения, коров, лошадей, овец, свиней, кошек, собак, мышей, крыс, кроликов, морских свинок, обезьян, людей и т.д., более предпочтительно человека.

[0044] Слова «вправо», «влево», «ниже» и «выше» обозначают направления на чертежах, на которые дается ссылка.

[0045] Следует также понимать, что термины «примерно», «приблизительно», «в целом», «по существу» и аналогичные термины, используемые в настоящем описании при ссылке на размер или характеристику компонента предпочтительного варианта изобретения, указывают на то, что описанный размер/характеристика не является строгой границей или параметром и не исключает незначительных отклонений от указанных значений, которые являются функционально одинаковыми или аналогичными, что является понятным специалисту в данной области техники. Как минимум, такие ссылки, которые включают числовой параметр, включают разброс значений, который с точки зрения математических и производственных принципов, принятых в данной области техники (например, округление, измерение или другие систематические ошибки, производственные допуски и т.д.), не приведет к изменению наименее значащей цифры.

[0046] Термины «идентичный» или процент «идентичности» в контексте двух или более нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей (например, анти-TIM-3 антител, полипептидов TIM-3 и полинуклеотидов, которые их кодируют), относятся к двум или более последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или имеют определенный процент аминокислотных остатков или нуклеотидов, которые являются одинаковыми, при сравнении и выравнивании для определения максимального соответствия, измеренного с помощью одного из приведенных ниже алгоритмов сравнения последовательностей или путем визуального контроля.

[0047] Для сравнения последовательностей одна последовательность обычно используется как эталонная последовательность, с которой сравнивают тестируемые последовательности. При использовании алгоритма сравнения последовательностей тестируемые и эталонные последовательности вводят в компьютер, при необходимости, обозначают координаты подпоследовательности, и назначают параметры программы для алгоритма сравнения последовательностей. Затем с помощью алгоритма сравнения последовательностей вычисляют процент идентичности последовательности для тестируемых последовательностей относительно эталонной последовательности на основе параметров программы.

[0048] Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения может быть выполнено, например, при помощи алгоритма локальной гомологии Смита-Уотермана (Smith & Waterman, *Adv. Appl. Math.* 2:482 (1981)), алгоритма парного выравнивания Нидлмана-Вунша (Needleman & Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48:443 (1970)), методом поиска

подобия Липмана-Пирсона, (Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)), путем реализации этих алгоритмов в виде компьютерных программ (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA в пакете Wisconsin Genetics Software, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI) или путем визуальной оценки (см., например, Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel et al., eds., Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. и John Wiley & Sons, Inc., (1995 Supplement) (Ausubel)).

[0049] Примерами алгоритмов, подходящих для определения процента идентичности и сходства последовательностей, являются алгоритмы BLAST и BLAST 2.0, которые описаны у Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410 и Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, соответственно. Программное обеспечение для анализа BLAST доступно через Национальный центр биотехнологической информации. Этот алгоритм включает сначала идентификацию пар последовательностей с высоким количеством очков (HSP) путем идентификации коротких слов длиной W в запрашиваемой последовательности, которые либо соответствуют, либо удовлетворяют некоторому пороговому положительному количеству очков T при выравнивании со словом той же длины в последовательности из базы данных. T называют порогом количества очков для слов в определенной окрестности (Altschul et al., выше). Указанные исходные совпадения соседних слов в окрестности действуют как начало для инициации поиска для нахождения содержащих их HSP. Поиск совпадения слов продолжают в обоих направлениях вдоль каждой последовательности до тех пор, пока можно увеличивать суммарное количество очков выравнивания.

[0050] Суммарное количество очков для нуклеотидных последовательностей вычисляют с помощью параметров M (очки вознаграждения за пару совпадающих остатков; всегда > 0) и N (штрафные очки за несовпадающие остатки; всегда < 0). Для аминокислотных последовательностей для подсчета суммарного количества очков используется матрица подсчета очков. Продолжение поиска совпадения слов в каждом направлении прекращают, когда: суммарное количество очков выравнивания уменьшается на количество X по сравнению с его достигнутым максимальным значением; суммарное количество очков опускается до нуля или ниже в результате суммирования одного или нескольких отрицательно оцениваемых выравниваний остатков; или достигается конец какой-либо последовательности. Параметры W , T и X алгоритма BLAST определяют чувствительность и скорость выравнивания. В программе BLAST (для нуклеотидных последовательностей) по умолчанию используется длина слов (W), равная 11, ожидание (E) - 10, $M=5$, $N = -4$, и сравнение обеих нитей. Для аминокислотных последовательностей в программе BLAST по умолчанию используется длина слов (W), равная 3, ожидание (E) - 10 и матрица подсчета очков BLOSUM62 (см. Henikoff & Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915 (1989)).

[0051] Дополнительно к вычислению процента идентичности последовательности алгоритм BLAST также выполняет статистический анализ сходства между двумя последовательностями (см., например, Karlin & Altschul, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA

90:5873-5787 (1993)). Одной из мер сходства, предусмотренных алгоритмом BLAST, является наименьшая суммарная вероятность ($P(N)$), которая является показателем вероятности, с которой случайно может иметь место совпадение между двумя нуклеотидными или аминокислотными последовательностями. Например, последовательность нуклеиновой кислоты считается сходной с эталонной последовательностью, если наименьшая суммарная вероятность при сравнении тестируемой последовательности нуклеиновой кислоты со второй эталонной нуклеиновой кислотой составляет меньше примерно 0,1, более предпочтительно, меньше примерно 0,01, и наиболее предпочтительно, меньше примерно 0,001.

[0052] Дополнительным указанием на то, что две последовательности нуклеиновых кислот или полипептидов являются по существу идентичными, является то, что полипептид, кодируемый первой нуклеиновой кислотой, является иммунологически перекрестно реактивным с полипептидом, кодируемым второй нуклеиновой кислотой, как описано ниже. Таким образом, полипептид обычно является по существу идентичным второму полипептиду, например, если два пептида отличаются только консервативными заменами. Другим указанием на то, что две последовательности нуклеиновых кислот являются по существу идентичными, является то, что две молекулы гибридизуются друг с другом в жестких условиях.

[0053] Антитела

[0054] Изобретение в общем относится к выделенным анти-TIM-3 антителам, нуклеиновым кислотам и векторам экспрессии, кодирующим эти антитела, рекомбинантным клеткам, содержащим векторы, и композициям, содержащим указанные антитела. Также предлагаются способы получения антител, а также способы применения этих антител для лечения заболеваний, включая рак, воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, нарушения метаболизма, и/или инфекционные заболевания. Антитела по изобретению имеют одно или более требуемых функциональных свойств, включая, без ограничения, высокоаффинное связывание с TIM-3, высокую специфичность к TIM-3, способность блокировать связывание TIM-3 с фосфатидилсерином (PtdSer), способность блокировать связывание TIM-3 с галектином-9, способность блокировать связывание TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1), способность блокировать связывание TIM-3 с белком V1 группы высокой подвижности (HMGB1), способность стимулировать выработку цитокинов, таких как, без ограничения, IL-2 и IFN- γ , и способность ингибировать рост опухоли на животных моделях и у субъектов при введении отдельно или в комбинации с другими противораковыми терапевтическими агентами.

[0055] В общем аспекте настоящее изобретение относится к выделенным моноклональным антителам или их антигенсвязывающим фрагментам, которые связываются с TIM-3.

[0056] В контексте настоящего описания термин «антитело» используется в широком смысле и включает молекулы иммуноглобулина или антитела, включая

человеческие, гуманизированные, составные и химерные антитела и фрагменты антител, которые являются моноклональными или поликлональными. Обычно антитела представляют собой белки или пептидные цепи, которые проявляют специфичность связывания к конкретному антигену. Структуры антител хорошо известны. Иммуноглобулины могут быть отнесены к пяти основным классам (т.е., IgA, IgD, IgE, IgG и IgM), в зависимости от аминокислотной последовательности константного домена тяжелой цепи. IgA и IgG, дополнительно подразделяют на изотипы IGA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Соответственно, антитела по изобретению могут быть любым антителом из пяти основных классов или соответствующих подклассов. Предпочтительно антитело по изобретению представляет собой IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Легкие цепи антител видов позвоночных можно отнести к одному из двух четко различимых типов, а именно каппа и лямбда, на основе аминокислотных последовательностей их константных доменов. Соответственно, антитела по изобретению могут содержать константный домен легкой цепи каппа или лямбда. В соответствии с конкретными вариантами осуществления, антитела по изобретению включают константные области тяжелой и/или легкой цепи, полученные от крысы или человеческих антител. В дополнение к тяжелым и легким константным доменам, антитела содержат антигенсвязывающую область, которая состоит из варибельной области легкой цепи и варибельной области тяжелой цепи, каждая из которых содержит три домена (т.е. определяющие комплементарность области 1-3; CDR1, CDR2 и CDR3). Домены варибельной области легкой цепи альтернативно обозначают как LCDR1, LCDR2 и LCDR3, а домены варибельной области тяжелой цепи альтернативно обозначают как HCDR1, HCDR2 и HCDR3.

[0057] В контексте настоящего описания термин «выделенное антитело» относится к антителу, которое по существу не содержит других антител, обладающих разными антигенными специфичностями (например, выделенное антитело, которое специфически связывается с TIM-3, по существу не содержит антител, которые не связываются с TIM-3). Кроме того, выделенное антитело по существу не содержит других клеточных материалов и/или химических веществ.

[0058] В контексте настоящего описания термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела по изобретению могут быть получены методом гибридомы, с помощью фагового дисплея, методом клонирования гена одного лимфоцита или методами рекомбинантной ДНК. Например, моноклональные антитела могут быть получены с помощью гибридомы, которая включает В-клетку, полученную из трансгенного нечеловеческого животного, такого как трансгенная мышь или крыса, имеющую геном, содержащий трансген человеческой тяжелой цепи и трансген легкой цепи.

[0059] В контексте настоящего описания термин «антигенсвязывающий фрагмент»

относится к фрагменту антитела, такому как, например, диатело, фрагмент Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fv-фрагмент, стабилизированный дисульфидными связями (dsFv), (dsFv)₂, биспецифический dsFv (dsFv-dsFv'), стабилизированное дисульфидными связями ди-антитело (ds-антитело), одноцепочечная молекула антитела (scFv), однодоменное антитело (sdab), scFv-димер (двухвалентное диатело), полиспецифическое антитело, образованное из части антитела, содержащей одну или более CDR, однодоменное антитело верблюда, нанотело, доменное антитело, бивалентное доменное антитело или любой другой фрагмент антитела, который связывается с антигеном, но не содержит полную структуру антитела. Антигенсвязывающий фрагмент способен связываться с тем же антигеном, с которым связывается родительское антитело или фрагмент родительского антитела. Согласно конкретным вариантам осуществления антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область легкой цепи, константную область легкой цепи и Fd-сегмент тяжелой цепи. Согласно другим конкретным вариантам осуществления антигенсвязывающий фрагмент содержит Fab и F(ab').

[0060] В контексте настоящего описания термин «одноцепочечное антитело» относится к обычному в данной области одноцепочечному антителу, которое включает переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, соединенную коротким пептидом длиной от примерно 15 до примерно 20 аминокислот. Используемый в настоящем описании термин «однодоменное антитело» относится к обычному в данной области однодоменному антителу, которое содержит переменную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи или которое содержит только переменную область тяжелой цепи.

[0061] В контексте настоящего описания термин «человеческое антитело» относится к антителу, продуцируемому человеческим организмом, или антителу, имеющему аминокислотную последовательность, соответствующую антителу, продуцируемому человеческим организмом, полученному с помощью любого метода, известного в данной области. Это определение человеческого антитела включает интактные или полноразмерные антитела, их фрагменты и/или антитела, содержащие по меньшей мере один полипептид тяжелой и/или легкой цепи человека.

[0062] В контексте настоящего описания термин «гуманизированное антитело» относится к антителу, не являющемуся человеческим, которое модифицировано для увеличения гомологии последовательности с последовательностью человеческого антитела с сохранением антигенсвязывающих свойств антитела, но с уменьшенной антигенностью в организме человека.

[0063] В контексте настоящего описания термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором аминокислотная последовательность молекулы иммуноглобулина получена из двух или более видов. Переменные области как легкой, так и тяжелой цепей часто соответствуют переменным областям антитела, полученного из одного вида млекопитающего (например, мыши, крысы, кролика и т.д.), имеющим требуемую специфичность, аффинность и способность, в то время как константные области

соответствуют последовательностям антитела, полученного от другого вида млекопитающего (например, человека), чтобы избежать инициации иммунного ответа у этого вида.

[0064] В контексте настоящего описания термин «полиспецифическое антитело» относится к антителу, которое содержит множество последовательностей переменного домена иммуноглобулина, причем первая последовательность переменного домена иммуноглобулина из этого множества обладает специфичностью связывания по отношению к первому эпитопу, а вторая последовательность переменного домена иммуноглобулина из этого множества обладает специфичностью связывания по отношению ко второму эпитопу. В одном из вариантов осуществления первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, например на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления первый и второй эпитопы перекрываются или по существу перекрываются. В одном из вариантов осуществления первый и второй эпитопы не перекрываются или по существу не перекрываются. В одном из вариантов осуществления первый и второй эпитопы находятся на разных антигенах, например на разных белках (или разных субъединицах мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления полиспецифическое антитело содержит третий, четвертый или пятый переменный домен иммуноглобулина. В одном из вариантов осуществления полиспецифическое антитело представляет собой молекулу биспецифического антитела, триспецифического антитела или молекулу тетраспецифического антитела.

[0065] В контексте настоящего описания термин «биспецифическое антитело» относится к полиспецифическому антителу, которое связывается с не более чем двумя эпитопами или двумя антигенами. Биспецифическое антитело характеризуется первой последовательностью переменного домена иммуноглобулина, которая обладает специфичностью связывания по отношению к первому эпитопу, и второй последовательностью переменного домена иммуноглобулина, которая обладает специфичностью связывания по отношению ко второму эпитопу. В одном из вариантов осуществления первый и второй эпитопы находятся на одном и том же антигене, например, на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления первый и второй эпитопы перекрываются или по существу перекрываются. В одном из вариантов осуществления первый и второй эпитопы находятся на разных антигенах, например на разных белках (или разных субъединицах мультимерного белка). В одном из вариантов осуществления биспецифическое антитело содержит последовательность переменного домена тяжелой цепи и последовательность переменного домена легкой цепи, которые обладают специфичностью связывания по отношению к первому эпитопу, и последовательность переменного домена тяжелой цепи и последовательность переменного домена легкой цепи, которые имеют специфичность связывания по отношению ко второму эпитопу. В одном из вариантов осуществления биспецифическое антитело содержит половинное антитело или его

фрагмент, обладающий специфичностью связывания по отношению к первому эпитопу, и половинное антитело или его фрагмент, обладающий специфичностью связывания по отношению ко второму эпитопу. В одном из вариантов осуществления биспецифическое антитело содержит scFv или его фрагмент, обладающий специфичностью связывания по отношению к первому эпитопу, и scFv или его фрагмент, обладающий специфичностью связывания по отношению ко второму эпитопу. В одном из вариантов осуществления первый эпитоп расположен на TIM-3, а второй эпитоп расположен на PD-1, PD-L1, LAG-3, CTLA-4, EGFR, HER-2, CD19, CD20, CD33, DLL-3, CD73, апелине, CD3, CD47, TIG-1, CLDN18.2, FOLR1 и/или других ассоциированных с опухолью иммуносупрессорах или поверхностных антигенах.

[0066] В контексте настоящего описания термин «TIM-3» относится к молекуле белка 3, содержащего Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина, рецептору, экспрессируемому на миелоидных клетках, включая дендритные клетки (DC), макрофаги и природные киллерные (NK) клетки, и подмножеству лимфоидных клеток, таких как Т-клетки. TIM-3 способен связываться с фосфатидилсерином (PtdSer), который является основным сигнальным белком фагоцитоза апоптотических тел или клеток. Когда связывание PtdSer и TIM-3 блокируется специфическими антителами, апоптотические тела не удаляются, что может вызывать иммунологические нарушения, такие как генерация аутоантител (см. Ocana-Guzman et al., «TIM-3 regulates distinct functions in macrophages,» *Frontiers in Immunology* Vol. 7, Art. 229 (2016)). TIM-3 может регулировать выработку и высвобождение цитокинов в моноцитах и макрофагах (rev. Ocana-Guzman et al., Id). Термин «человеческий TIM-3» относится к TIM-3, происходящему от человека. Примерная аминокислотная последовательность человеческого TIM-3 представлена в GenBank под номером Q8TDQ0.3 или NP_116171.3 (SEQ ID NO: 177).

[0067] В контексте настоящего описания, антитело, которое «специфически связывается с TIM-3», относится к антителу, которое связывается с TIM-3, предпочтительно человеческим TIM-3, с KD 1×10^{-7} М или менее, предпочтительно 1×10^{-8} М или менее, более предпочтительно 5×10^{-9} М или менее, 1×10^{-9} М или менее, 5×10^{-10} М или менее или 1×10^{-10} М или менее. Термин «KD» относится к константе диссоциации, которую получают из отношения Kd к Ka (т.е., Kd/Ka) и выражают в виде молярной концентрации (M). Значения KD для антител могут быть определены с помощью способов, известных в данной области техники с учетом настоящего раскрытия. Например, KD антитела можно определить с помощью поверхностного плазмонного резонанса, например, с помощью биосенсорной системы, такой как система Biacore®, или с помощью технологии интерферометрии биослоя, например с помощью системы Octet RED96.

[0068] Чем меньше значение KD антитела, тем выше сродство связывания антитела с целевым антигеном.

[0069] Согласно конкретному аспекту изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему

определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

- (1) SEQ ID NO:43, 44, 169, 106, 107 и 170, соответственно;
- (2) SEQ ID NO:55, 56, 57, 118, 119 и 120, соответственно;
- (3) SEQ ID NO:58, 59, 60, 121, 122 и 123, соответственно;
- (4) SEQ ID NO:61, 62, 63, 124, 125 и 126, соответственно;
- (5) SEQ ID NO:64, 65, 66, 127, 128 и 129, соответственно;
- (6) SEQ ID NO:67, 68, 69, 130, 131 и 132, соответственно;
- (7) SEQ ID NO:70, 71, 72, 133, 134 и 135, соответственно;
- (8) SEQ ID NO:73, 74, 75, 136, 137 и 138, соответственно;
- (9) SEQ ID NO:76, 77, 78, 139, 140 и 141, соответственно;
- (10) SEQ ID NO:79, 80, 81, 142, 143 и 144, соответственно;
- (11) SEQ ID NO:82, 83, 84, 145, 146 и 147, соответственно;
- (12) SEQ ID NO:85, 86, 87, 148, 149 и 150, соответственно;
- (13) SEQ ID NO:88, 89, 90, 151, 152 и 153, соответственно;
- (14) SEQ ID NO:91, 92, 93, 154, 155 и 156, соответственно;
- (15) SEQ ID NO:94, 95, 96, 157, 158 и 159, соответственно;
- (16) SEQ ID NO:97, 98, 99, 160, 161 и 162, соответственно;
- (17) SEQ ID NOs:100, 101, 102, 163, 164 и 165, соответственно; или
- (18) SEQ ID NO:103, 104, 105, 166, 167 и 168, соответственно;

причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с TIM-3, предпочтительно человеческим TIM-3.

[0070] SEQ ID NO: 169 представлена аминокислотной последовательностью $ARDX_1X_2DY$, где X_1 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, T и L, и где X_2 представляет собой аминокислоту, выбранную из M и E.

[0071] SEQ ID NO: 170 представлена аминокислотной последовательностью $SQX_1X_2HVPX_3T$, где X_1 представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из N, T и S, X_2 представляет собой аминокислоту, выбранную из T и I, и X_3 представляет собой аминокислоту, выбранную из W и Y.

[0072] Согласно другому конкретному аспекту, изобретение относится выделенному моноклональному антителу или антигенсвязывающему фрагменту, содержащему вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную одной из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 или 41, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную одной из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 или 42. Согласно одному из предпочтительных вариантов осуществления выделенное моноклональное

антитело или антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно 95% идентичную SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 или 41, или переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно 95% идентичную SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 или 42, соответственно.

[0073] Согласно другому конкретному аспекту, изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту по изобретению, содержащему:

a. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:1, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:2;

b. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:3, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:4;

c. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:5, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:6;

d. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:7, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:8;

e. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:9, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:10;

f. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:11, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:12;

g. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:13, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:14;

h. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:15, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:16;

i. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:17, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:18;

j. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:19, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:20;

k. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:21, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:22;

l. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:23, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:24;

m. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:25, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:26;

n. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:27, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:28;

o. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:29, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:30;

p. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:31, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:32;

q. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:33, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:34;

r. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:35, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:36;

s. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:37, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:38;

t. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:39, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:40; или

u. вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:41, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:42.

[0074] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 43, 44, 45, 106, 107 и 108, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%,

более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 1, и переменную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 2. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 1; и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 2.

[0075] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 46, 47, 48, 109, 110 и 111, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 3, и переменную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 4. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 3; и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 4.

[0076] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 49, 50, 51, 112, 113 и 114, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 5, и переменную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 6. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 5; и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 6.

[0077] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 52, 53, 54, 115, 116 и 117, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 7, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 8. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 7; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 8.

[0078] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 55, 56, 57, 118, 119 и 120, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 9, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 10. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 9; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 10.

[0079] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 58, 59, 60, 121, 122 и 123, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 11, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 12. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 11; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 12.

[0080] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные

последовательности SEQ ID NO: 61, 62, 63, 124, 125 и 126, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 13, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 14. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 13; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 14.

[0081] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 64, 65, 66, 127, 128 и 129, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 15, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 16. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 15; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 16.

[0082] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 67, 68, 69, 130, 131 и 132, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 17, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 18. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 17; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 18.

[0083] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному

моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 70, 71, 72, 133, 134 и 135, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 19, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 20. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 19; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 20.

[0084] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 73, 74, 75, 136, 137 и 138, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 21, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 22. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 21; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 22.

[0085] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 76, 77, 78, 139, 140 и 141, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 23, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 24. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 23; и вариабельную область легкой цепи, имеющую

полипептидную последовательность SEQ ID NO: 24.

[0086] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 79, 80, 81, 142, 143 и 144, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 25, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 26. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 25; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 26.

[0087] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 82, 83, 84, 145, 146 и 147, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 27, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 28. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 27; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 28.

[0088] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 85, 86, 87, 148, 149 и 150, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 29, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 30. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 29; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 30.

[0089] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 88, 89, 90, 151, 152 и 153, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 31, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 32. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 31; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 32.

[0090] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 91, 92, 93, 154, 155 и 156, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 33, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 34. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 33; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 34.

[0091] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 94, 95, 96, 157, 158 и 159, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 35, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%,

предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 36. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 35; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 36.

[0092] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 97, 98, 99, 160, 161 и 162, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 37, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 38. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 37; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 38.

[0093] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 100, 101, 102, 163, 164 и 165, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 39, и вариабельную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 40. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 39; и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 40.

[0094] В одном из вариантов осуществления изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, содержащему HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3, имеющим полипептидные последовательности SEQ ID NO: 103, 104, 105, 166, 167 и 168, соответственно. В другом варианте осуществления выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%,

более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 41, и переменную для легкой цепи область, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 85%, предпочтительно на 90%, более предпочтительно на 95% идентичную SEQ ID NO: 42. Предпочтительно, выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 41; и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO: 42.

[0095] Согласно другому конкретному аспекту, изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту по изобретению, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным.

[0096] В соответствии с другим конкретным аспектом изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту по изобретению, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является человеческим или гуманизированным.

[0097] В соответствии с другим конкретным аспектом изобретение относится к выделенному гуманизованному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту по изобретению, причем выделенное гуманизованное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:171, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:175;

(b) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:172, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:175;

(c) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:173, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:176; или

(d) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:174, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:176.

[0098] Согласно другому конкретному аспекту изобретение относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способно блокировать связывание TIM-3 с фосфатидилсеринем (PtdSer), TIM-3 с галектином-9 (Gal-9), TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1) и/или TIM-3 с белком В1 группы высокой подвижности (HMGB1).

[0099] В другом общем аспекте изобретение относится к выделенной нуклеиновой кислоте, кодирующей моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению. Специалистам в данной области будет понятно, что кодирующая

последовательность белка может быть изменена (например, путем замены, делеции, вставки и т.д.) без изменения аминокислотной последовательности белка. Соответственно, специалистам в данной области техники будет понятно, что последовательности нуклеиновых кислот, кодирующие моноклональные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты по изобретению, можно изменять без изменения аминокислотных последовательностей белков.

[00100] В другом общем аспекте изобретение относится к вектору, содержащему выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению. Можно использовать любой вектор, известный специалистам в данной области с учетом настоящего изобретения, такой как плазмидный, космидный, фаговый вектор или вирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой рекомбинантный вектор экспрессии, такой как плаزمид. Вектор может включать любой элемент для обеспечения обычной функции вектора экспрессии, например, промотор, элемент связывания рибосомы, терминатор, энхансер, селективный маркер и точку начала репликации. Промотор может быть конститутивным, индуцибельным или репрессиремым промотором. Ряд векторов экспрессии, способных доставлять нуклеиновые кислоты в клетку, известны в данной области и могут быть использованы согласно изобретению для продуцирования клеткой антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Для создания рекомбинантного вектора экспрессии в соответствии с вариантами осуществления изобретения могут быть использованы традиционные методы клонирования или искусственного синтеза генов.

[00101] В другом общем аспекте изобретение относится к клетке-хозяину, содержащей выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению. Любая клетка-хозяин, известная специалистам в данной области с учетом настоящего раскрытия, может быть использована для рекомбинантной экспрессии антител или их антигенсвязывающих фрагментов по изобретению. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки-хозяева представляют собой клетки *E.coli* TG1 или BL21 (для экспрессии, например, антитела scFv или Fab), клетки CHO-DG44 или CHO-K1 или клетки HEK293 (для экспрессии, например, полноразмерного антитела IgG). Согласно конкретным вариантам осуществления рекомбинантный вектор экспрессии трансформируют в клетки-хозяева обычными способами, такими как химическая трансфекция, тепловой шок или электропорация, где он стабильно интегрируется в геном клетки-хозяина таким образом, чтобы обеспечивалась эффективная экспрессия рекомбинантной нуклеиновой кислоты.

[00102] В другом общем аспекте изобретение относится к способу получения моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по изобретению, включающему культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент, в условиях для продуцирования моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента, и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры

(например, из супернатанта). Экспрессированные антитела или их антигенсвязывающие фрагменты можно собирать из клеток и очищать в соответствии с общепринятыми методами, известными в данной области техники и описанными в настоящей заявке.

[00103] Фармацевтические композиции

[00104] В другом общем аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтическая композиция» означает продукт, содержащий антитело по изобретению вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Антитела по изобретению и композиции, содержащие их, также полезны при изготовлении лекарственного средства для терапевтических применений, упомянутых в настоящем описании.

[00105] В контексте настоящего описания термин «носитель» относится к любому формообразующему агенту, разбавителю, наполнителю, соли, буферу, стабилизатору, солюбилизатору, маслу, липиду, липидсодержащей везикуле, микросфере, липосомальной оболочке для инкапсуляции или другому материалу, хорошо известному в данной области техники, для использования в фармацевтических составах. Понятно, что характеристики носителя, формообразующего агента или разбавителя будут зависеть от пути введения, используемого для конкретного применения. Используемый в настоящем описании термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному материалу, который не влияет на эффективность композиции по изобретению или биологическую активность композиции по изобретению. В соответствии с конкретными вариантами осуществления, с учетом настоящего изобретения, в изобретении может быть использован любой фармацевтически приемлемый носитель, подходящий для использования в фармацевтической композиции антитела.

[00106] Состав фармацевтически активных ингредиентов с фармацевтически приемлемыми носителями известен в данной области, см. например, *The Science and Practice of Pharmacy* (например, 21-е издание (2005) и любые более поздние издания). Неограничивающие примеры дополнительных ингредиентов включают: буферы, разбавители, растворители, агенты, регулирующие тоничность, консерванты, стабилизаторы и хелатообразующие агенты. При приготовлении состава фармацевтических композиций по изобретению могут быть использованы один или более фармацевтически приемлемых носителей.

[00107] В одном из вариантов осуществления изобретения фармацевтическая композиция представляет собой жидкую композицию. Предпочтительным примером жидкого состава является водный состав, т.е. состав, содержащий воду. Жидкий состав может содержать раствор, суспензию, эмульсию, микроэмульсию, гель и т.п. Водный состав обычно содержит по меньшей мере 50% мас./мас. воды или по меньшей мере 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или по меньшей мере 95% мас./мас. воды.

[00108] В одном из вариантов осуществления фармацевтическая композиция может

быть составлена в виде инъекционного раствора, который можно вводить, например, с помощью инъекционного устройства (например, шприца или инфузионного насоса). Инъекция может быть, например, подкожной, внутримышечной, внутрибрюшинной, интравитреальной или внутривенной.

[00109] В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция представляет собой твердый состав, например лиофилизированную или высушенную распылением композицию, которую можно использовать как есть, или в которую врач или пациент перед использованием добавляет растворители и/или разбавители. Твердые лекарственные формы могут включать таблетки, такие как прессованные таблетки и/или таблетки с покрытием и капсулы (например, твердые или мягкие желатиновые капсулы). Фармацевтическая композиция также может быть, например, в форме саше, драже, порошков, гранул, пастилок или порошков для разведения.

[00110] Лекарственные формы могут быть с немедленным высвобождением, и в этом случае они могут содержать водорастворимый или диспергируемый носитель, или они могут иметь отсроченное высвобождение, замедленное высвобождение или модифицированное высвобождение, и в этом случае они могут содержать нерастворимые в воде полимеры, которые регулируют скорость растворения лекарственной формы в желудочно-кишечном тракте или под кожей.

[00111] В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция может быть доставлена интраназально, внутривибуккально или сублингвально.

[00112] Значение pH водной композиции может составлять от 3 до 10. В одном из вариантов осуществления изобретения pH композиции составляет от примерно 7,0 до примерно 9,5. В другом варианте осуществления изобретения pH композиции составляет от примерно 3,0 до примерно 7,0.

[00113] В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит буфер. Неограничивающие примеры буферов включают: аргинин, аспарагиновую кислоту, бицин, цитрат, динатрия гидрофосфат, фумаровую кислоту, глицин, глицилглицин, гистидин, лизин, малеиновую кислоту, яблочную кислоту, ацетат натрия, карбонат натрия, дигидрофосфат натрия, фосфат натрия, сукцинат, винную кислоту, трицин и трис(гидроксиметил)аминометан и их смеси. Буфер может присутствовать отдельно или в виде смеси в концентрации от примерно 0,01 до примерно 50 мг/мл, например от примерно 0,1 до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из этих конкретных буферов, составляют альтернативные варианты осуществления изобретения.

[00114] В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит консервант. Неограничивающие примеры консервантов включают: бензетония хлорид, бензойную кислоту, бензиловый спирт, бронопол, бутил-4-гидроксibenзоат, хлорбутанол, хлоркрезол, хлоргексидин, хлорфенезин, о-крезол, м-крезол, п-крезол, этил-4-гидроксibenзоат, имидомочевину, метил 4-гидроксibenзоат, фенол, 2-феноксietанол, 2-фенилэтанол, пропил 4-гидроксibenзоат, дегидроацетат

натрия, тиомеросал и их смеси. Консервант может присутствовать отдельно или в виде смеси в концентрации от примерно 0,01 до примерно 50 мг/мл, например от примерно 0,1 до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из этих конкретных консервантов, составляют альтернативные варианты осуществления изобретения.

[00115] В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит регулирующий тоничность агент. Неограничивающие примеры этого варианта осуществления включают соль (такую как хлорид натрия), аминокислоту (такую как глицин, гистидин, аргинин, лизин, изолейцин, аспарагиновая кислота, триптофан и треонин), альдит (такой как глицерин 1,2-пропандиол, пропиленгликоль, 1,3-пропандиол и 1,3-бутандиол), полиэтиленгликоль (например, ПЭГ400) и их смеси. Другой пример регулирующего тоничность агента включает сахар. Неограничивающими примерами сахаров могут быть моно-, ди- или полисахариды или водорастворимые глюкозаны, включая, например, фруктозу, глюкозу, маннозу, сорбозу, ксилозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, трегалозу, декстран, пуллулан, декстрин, циклодекстрин, альфа- и бета-НПСД, растворимый крахмал, гидроксиэтилкрахмал и натрий карбоксиметилцеллюлозу. Другим примером регулирующего тоничность агента является сахарный спирт, причем термин «сахарный спирт» определяется как С(4-8)углеводород, имеющий по меньшей мере одну группу -ОН. Неограничивающие примеры сахарных спиртов включают маннит, сорбит, инозит, галактит, дульцит, ксилит и арабит. Регулирующий тоничность агент может присутствовать отдельно или в смеси в концентрации от примерно 0,01 до примерно 50 мг/мл, например от примерно 0,1 до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из этих конкретных регулирующих тоничность агентов, составляют альтернативные варианты осуществления изобретения.

[00116] В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит хелатообразующий агент. Неограничивающие примеры хелатообразующих агентов включают лимонную кислоту, аспарагиновую кислоту, соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) и их смеси. Хелатообразующий агент может присутствовать отдельно или в смеси в концентрации от примерно 0,01 до примерно 50 мг/мл, например от примерно 0,1 до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из этих конкретных хелатообразующих агентов, составляют альтернативные варианты осуществления изобретения.

[00117] В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит стабилизатор. Неограничивающие примеры стабилизаторов включают один или более ингибиторов агрегации, один или более ингибиторов окисления, одно или более поверхностно-активных веществ и/или один или более ингибиторов протеаз.

[00118] В другом варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит стабилизатор, причем указанный стабилизатор представляет собой карбокси/гидроксицеллюлозу и ее производные (такие как НРС, НРС-SL, НРС-L и

НРМС), циклодекстрины, 2-метилтиоэтанол, полиэтиленгликоль (такой как ПЭГ 3350), поливиниловый спирт (PVA), поливинилпирролидон, соли (такие как хлорид натрия), серосодержащие вещества, такие как монотиоглицерин), или тиогликолевую кислоту. Стабилизатор может присутствовать отдельно или в смеси в концентрации от примерно 0,01 до примерно 50 мг/мл, например от примерно 0,1 до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из этих конкретных стабилизаторов, составляют альтернативные варианты осуществления изобретения.

[00119] В других вариантах осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит одно или более поверхностно-активных веществ, предпочтительно поверхностно-активное вещество, по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество или два разных поверхностно-активных вещества. Термин «поверхностно-активное вещество» относится к любым молекулам или ионам, которые состоят из водорастворимой (гидрофильной) части и жирорастворимой (липофильной) части. Поверхностно-активное вещество может быть выбрано, например, из группы, состоящей из анионных поверхностно-активных веществ, катионных поверхностно-активных веществ, неионогенных поверхностно-активных веществ и/или цвиттерионных поверхностно-активных веществ. Поверхностно-активное вещество может присутствовать отдельно или в смеси в концентрации от примерно 0,1 мг/мл до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждое из этих конкретных поверхностно-активных веществ, составляют альтернативные варианты осуществления изобретения.

[00120] В дополнительном варианте осуществления изобретения фармацевтическая композиция содержит один или более ингибиторов протеаз, таких как, например, ЭДТА, и/или солянокислый бензамидин (HCl). Ингибитор протеаз может присутствовать отдельно или в смеси в концентрации от примерно 0,1 мг/мл до примерно 20 мг/мл. Фармацевтические композиции, содержащие каждый из этих специфических ингибиторов протеаз, составляют альтернативные варианты осуществления изобретения.

[00121] В другом общем аспекте изобретение относится к способу получения фармацевтической композиции, содержащей моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по изобретению, включающему объединение моноклонального антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с получением фармацевтической композиции.

[00122] Способы применения

[00123] В другом общем аспекте изобретение относится к способу блокирования связывания TIM-3 с фосфатидилсерином (PtdSer), способу блокирования связывания TIM-3 с галектином-9, способу блокирования связывания TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1) или способу блокирования связывания TIM-3 с белком В1 группы высокой подвижности (HMGV1), причем этот способ включает введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

[00124] Функциональную активность антител и их антигенсвязывающих

фрагментов, которые связываются с TIM-3, можно охарактеризовать способами, известными в данной области техники и описанными в настоящей заявке. Способы определения характеристик антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые связываются с TIM-3, включают, без ограничения, анализы сродства и специфичности, включая анализ Biacore, ELISA и OctetRed; анализы связывания лигандов с рецепторами для выявления блокирования связывания TIM-3 с PtdSer, галектином-9, CEACAM1 и/или HMGB1; влияние ингибирования взаимодействия PtdSer-TIM-3 на функциональном уровне с использованием анти-TIM-3 mAb можно обнаружить в анализе клеточного фагоцитоза, в котором экспрессирующие TIM-3 макрофаги инкубируют с клетками, подвергающимися апоптозу (и, таким образом, экспрессирующими PtdSer), а блокирование взаимодействия PtdSer-TIM-3 с помощью mAb приводит к усилению фагоцитоза. Эффект ингибирования взаимодействия Gal-9-TIM-3, обеспечиваемый анти-TIM-3 mAb, на функциональном уровне можно обнаружить с помощью клеточного анализа, в котором секреция IFN- γ и гибель клеток происходят в результате обеспечиваемого mAb блокирования связывания Gal-9 на клетках AML с TIM-3 на клетках NK. Эффект ингибирования взаимодействия HMGB1-TIM-3, обеспечиваемый анти-TIM-3 mAb, на функциональном уровне можно обнаружить в клеточном анализе, в котором клетки, экспрессирующие TIM-3, инкубируют с В-ДНК, и блокирование взаимодействия HMGB1-TIM-3, обеспечиваемое mAb, приводит к увеличению продуцирования INF- β 1. Функциональную активность анти-TIM-3 mAb также можно оценить в анализе реакции лимфоцитов в смешанной культуре (MLR), в котором дендритные клетки и CD4⁺ клетки от разных доноров смешивают в присутствии mAb и измеряют стимуляцию секреции цитокинов. Согласно конкретным вариантам осуществления способы для определения характеристик антител и их антигенсвязывающих фрагментов, связывающих TIM-3, включают описанные ниже методы.

[00125] В другом общем аспекте изобретение относится к способу лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению. Рак может быть выбран, без ограничения, например, из рака легкого, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточного рака, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (НХЛ), острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфобластного лейкоза (CLL), хронического миелогенного лейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других видов гемобластома.

[00126] В другом общем аспекте изобретение относится к способу лечения инфекционного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

[00127] В другом общем аспекте изобретение относится к способу лечения воспалительного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

[00128] В другом общем аспекте изобретение относится к способу лечения аутоиммунного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

[00129] В другом общем аспекте изобретение относится к способу лечения нарушения метаболизма у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение субъекту фармацевтической композиции по изобретению.

[00130] Согласно вариантам осуществления изобретения, фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество анти-TIM-3 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Используемый в настоящем описании термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству активного ингредиента или компонента, которое вызывает требуемый биологический или лекарственный ответ у субъекта. Терапевтически эффективное количество может быть определено эмпирически и обычным образом в зависимости от заявленной цели.

[00131] Используемое в настоящем описании терапевтически эффективное количество в отношении анти-TIM-3 антитела или их антигенсвязывающего фрагмента означает количество анти-TIM-3 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое модулирует иммунный ответ у нуждающегося в этом субъекта. Также, используемое в настоящем описании терапевтически эффективное количество в отношении анти-TIM-3 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента означает количество анти-TIM-3 антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которое приводит к лечению заболевания, расстройства или состояния; предотвращает или замедляет прогрессирование заболевания, расстройства или состояния; или уменьшает или полностью облегчает симптомы, связанные с заболеванием, расстройством или состоянием.

[00132] Согласно конкретным вариантам осуществления, заболевание, расстройство или состояние, подлежащее лечению, представляет собой рак, предпочтительно рак, выбранный из группы, состоящей из рака легкого, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточного рака, уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (НХЛ), острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфобластного лейкоза (CLL), хронического миелогенного лейкоза (CML), множественной миеломы (MM), острого миелоидного лейкоза (AML) и других видов гемобластоза. Согласно другим конкретным вариантам осуществления заболевание, расстройство или состояние, подлежащее лечению, представляет собой инфекционное заболевание, воспалительное заболевание, иммунное заболевание, аутоиммунное заболевание и/или нарушение

метаболизма.

[00133] Согласно конкретным вариантам осуществления терапевтически эффективное количество относится к количеству терапевтического агента, которое является достаточным для достижения одного, двух, трех, четырех или более из следующих эффектов: (i) уменьшения или облегчения тяжести заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (ii) сокращения длительности заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (iii) предотвращения прогрессирования заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (iv) индуцирования регрессии заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (v) предотвращения развития или начала заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (vi) предотвращения рецидива заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (vii) уменьшения частоты госпитализации субъекта, имеющего заболевание, расстройство или состояние, подлежащее лечению, или связанный с ним симптом; (viii) уменьшения продолжительности госпитализации субъекта, страдающего от заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (ix) увеличения выживаемости субъекта, страдающего от заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома; (x) ингибирования или облегчения заболевания, расстройства или состояния, подлежащего лечению, или связанного с ним симптома у субъекта; и/или (xii) усиления или улучшения профилактического или терапевтического эффекта(ов) другой терапии.

[00134] Терапевтически эффективное количество или доза может меняться в зависимости от различных факторов, таких как заболевание, расстройство или состояние, подлежащее лечению, способа введения, целевого сайта, физиологического состояния субъекта (включая, например, возраст, массу тела, здоровье), от того, является ли субъект человеком или животным, других вводимых лекарственных средств, и типа лечения: является ли оно профилактическим или терапевтическим. Терапевтические дозы подбирают так, чтобы были достигнуты оптимальные уровни безопасности и эффективности.

[00135] Согласно конкретным вариантам осуществления, описанные в настоящей заявке композиции готовят в виде лекарственных форм, подходящих для предполагаемого пути введения субъекту. Например, описанные в настоящей заявке композиции могут быть приготовлены в виде лекарственной формы, подходящей для внутривенного, подкожного или внутримышечного введения.

[00136] В контексте настоящего описания термины «лечить» и «лечение» обозначают улучшение или реверсию по меньшей мере одного измеримого физического параметра, связанного с раком, инфекционным заболеванием, расстройством или состоянием, иммунным заболеванием, расстройством или состоянием, аутоиммунным

заболеванием, расстройством или состоянием, воспалительным заболеванием, расстройством или состоянием и/или связанным с нарушением метаболизма заболеванием, расстройством или состоянием, которые не обязательно проявлены, но могут быть проявлены у субъекта. Термины «лечить» и «лечение» также могут относиться к регрессии, предотвращению прогрессированию или, по меньшей мере, замедлению прогрессирования заболевания, расстройства или состояния. В конкретном варианте осуществления «лечить» и «лечение» относятся к облегчению, предотвращению развития или появления, или уменьшению продолжительности одного или более симптомов, связанных с заболеванием, расстройством или состоянием, таким как опухоль или более предпочтительно рак. В конкретном варианте осуществления «лечить» и «лечение» относятся к предотвращению рецидива заболевания, расстройства или состояния. В конкретном варианте осуществления «лечить» и «лечение» относятся к увеличению выживаемости субъекта, страдающего от заболевания, расстройства или состояния. В конкретном варианте осуществления «лечить» и «лечение» относятся к устранению заболевания, расстройства или состояния у субъекта.

[00137] Согласно конкретным вариантам осуществления, композицию, используемую при лечении рака, инфекционного заболевания, расстройства или состояния, иммунного заболевания, расстройства или состояния, аутоиммунного заболевания, расстройства или состояния, связанного с нарушением метаболизма заболевания, расстройства или состояния, и/или воспалительного заболевания, расстройства или состояния можно использовать в комбинации с другим видом лечения. Для лечения рака композицию можно использовать в комбинации с другим видом лечения, включая, без ограничения, химиотерапию, терапию с помощью анти-CD20 mAb, анти-CTLA-4 антитела, анти-LAG-3 mAb, анти-EGFR mAb, анти-HER-2 mAb, анти-CD19 mAb, анти-CD33 mAb, анти-CD73 mAb, анти-CD47 mAb, анти-DLL-3 mAb, mAb к апелину, анти-TIP-1 mAb, анти-CLDN18.2 mAb, анти-FOLR1 mAb, анти-PD-L1 антитела, анти-PD-1 антитела, PD-1/PD-L1 терапию, терапию с помощью других иммуноонкологических лекарственных веществ, антиангиогенных средств, лучевую терапию, терапию с помощью конъюгата антитело-лекарственное вещество (ADC), таргетную терапию или терапию с помощью других противораковых лекарственных веществ.

[00138] Используемый в настоящем описании термин «в комбинации» в контексте введения субъекту двух или более терапевтических агентов относится к применению более чем одного вида терапии. Использование термина «в комбинации» не ограничивает порядок введения терапевтических агентов субъекту. Например, первый терапевтический агент (например, описанную в настоящей заявке композицию) можно вводить до (например, за 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 часа, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 16 часов, 24 часов, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель), одновременно или после (например, через 5 минут, 15 минут, 30 минут, 45 минут, 1 час, 2 часа, 4 часа, 6 часов, 12 часов, 16

часов, 24 часа, 48 часов, 72 часа, 96 часов, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 8 недель или 12 недель) введения субъекту второго терапевтического агента.

[00139] В другом общем аспекте изобретение относится к способу определения уровня TIM-3 у субъекта, включающему (a) получение образца от субъекта; (b) приведение образца в контакт с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по изобретению; и (c) определение уровня TIM-3 у субъекта. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец ткани или крови. Образец ткани может представлять собой, например, образец раковой ткани. Образец крови может содержать, например, раковые клетки.

[00140] В контексте настоящего описания «образец» относится к биологическому образцу, полученному от субъекта, и может включать, без ограничения, цельную кровь, сыворотку, плазму, клетки крови, эндотелиальные клетки, биопсию ткани (например, раковую ткань, печеночную ткань и т.д.), лимфатическую жидкость, асцитную жидкость, интерстициальную жидкость, костный мозг, спинномозговую жидкость, слюну, слизистую, мокроту, пот, мочу или любые другие выделения, экскрецию или другие жидкости организма. «Образец крови» относится к цельной крови или любой ее фракции, включая клетки крови, сыворотку и плазму. «Образец крови» может, например, содержать раковые клетки.

[00141] В некоторых вариантах осуществления уровень TIM-3 у субъекта может быть определен с помощью анализов, выбранных, без ограничения, из вестерн-блот анализа, анализа ELISA, анализа FACS и/или иммуногистохимии (ИНС). Относительные уровни белка могут быть определены с помощью вестерн-блот анализа, анализа FACS и иммуногистохимии (ИНС), а абсолютные уровни белка могут быть определены с помощью анализа ELISA. При определении относительных уровней TIM-3 уровни TIM-3 могут быть определены по меньшей мере между двумя образцами, например, между образцами, полученными от одного и того же субъекта в разные моменты времени, между образцами, полученными из разных тканей одного и того же субъекта, и/или между образцами, полученными от разных субъектов. Альтернативно, при определении абсолютных уровней TIM-3, например с помощью анализа ELISA, абсолютный уровень TIM-3 в образце может быть определен путем создания перед тестированием образца стандарта для анализа ELISA. Специалист в данной области поймет, какие аналитические методы использовать для определения уровня TIM-3 в полученном от субъекта образце с помощью антитела или его антигенсвязывающего фрагмента по изобретению.

[00142] Использование способов определения уровня TIM-3 в образце от субъекта позволяет диагностировать аномальные (повышенные, пониженные или недостаточные) уровни TIM-3 при заболевании и принятию соответствующих решений относительно терапии. Такое заболевание может быть выбрано, без ограничения, из рака, предпочтительно рака, выбранного из группы, состоящей из рака легкого, рака желудка, рака толстой кишки, гепатоцеллюлярной карциномы, почечно-клеточного рака,

уротелиальной карциномы мочевого пузыря, метастатической меланомы, рака молочной железы, рака яичников, рака шейки матки, рака головы и шеи, рака поджелудочной железы, глиомы, глиобластомы и других солидных опухолей, а также неходжкинской лимфомы (НХЛ), острого лимфобластного лейкоза (ALL), хронического лимфобластного лейкоза (CLL), хронического миелогенного лейкоза (СМЛ), множественной миеломы (ММ), острого миелоидного лейкоза (AML) и других видов гемобластоза, воспалительного заболевания, инфекционного заболевания, нарушения метаболизма, иммунного заболевания и/или аутоиммунного заболевания.

ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[00143] Изобретение также предусматривает следующие неограничивающие варианты осуществления.

[00144] Вариант осуществления 1 представляет собой выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащее определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности

- (1) SEQ ID NO:43, 44, 169, 106, 107 и 170, соответственно;
- (2) SEQ ID NO:55, 56, 57, 118, 119 и 120, соответственно;
- (3) SEQ ID NO:58, 59, 60, 121, 122 и 123, соответственно;
- (4) SEQ ID NO:61, 62, 63, 124, 125 и 126, соответственно;
- (5) SEQ ID NO:64, 65, 66, 127, 128 и 129, соответственно;
- (6) SEQ ID NO:67, 68, 69, 130, 131 и 132, соответственно;
- (7) SEQ ID NO:70, 71, 72, 133, 134 и 135, соответственно;
- (8) SEQ ID NO:73, 74, 75, 136, 137 и 138, соответственно;
- (9) SEQ ID NO:76, 77, 78, 139, 140 и 141, соответственно;
- (10) SEQ ID NO:79, 80, 81, 142, 143 и 144, соответственно;
- (11) SEQ ID NO:82, 83, 84, 145, 146 и 147, соответственно;
- (12) SEQ ID NO:85, 86, 87, 148, 149 и 150, соответственно;
- (13) SEQ ID NO:88, 89, 90, 151, 152 и 153, соответственно;
- (14) SEQ ID NO:91, 92, 93, 154, 155 и 156, соответственно;
- (15) SEQ ID NO:94, 95, 96, 157, 158 и 159, соответственно;
- (16) SEQ ID NO:97, 98, 99, 160, 161 и 162, соответственно;
- (17) SEQ ID NO:100, 101, 102, 163, 164 и 165, соответственно; или
- (18) SEQ ID NO:103, 104, 105, 166, 167 и 168, соответственно;

причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с TIM-3, предпочтительно человеческим TIM-3.

[00145] Вариант осуществления 2 представляет собой выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 1, содержащее переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27,

29, 31, 33, 35, 37, 39 или 41, или вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 или 42.

[00146] Вариант осуществления 3 представляет собой выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по варианту осуществления 1 или 2, содержащее:

(a) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:1, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:2;

(b) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:3, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:4;

(c) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:5, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:6;

(d) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:7, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:8;

(e) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:9, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:10;

(f) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:11, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:12;

(g) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:13, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:14;

(h) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:15, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:16;

(i) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:17, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:18;

(j) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:19, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:20;

(k) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:21, и вариабельную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:22;

(l) вариабельную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO:23, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:24;

(m) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:25, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:26;

(n) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:27, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:28;

(o) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:29, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:30;

(p) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:31, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:32;

(q) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:33, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:34;

(r) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:35, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:36;

(s) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:37, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:38;

(t) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:39, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:40

(u) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:41, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:42.

[00147] Вариант осуществления 4 представляет собой выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-3, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным.

[00148] Вариант осуществления 5 представляет собой выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-4, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является человеческим или гуманизированным.

[00149] Вариант осуществления 6 представляет собой выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент варианта осуществления 5, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит:

(a) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную

последовательность SEQ ID NO:171, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:175;

(b) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:172, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:175;

(c) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:173, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:176; или

(d) переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:174, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:176.

[00150] Вариант осуществления 7 представляет собой выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-6, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способно блокировать связывание TIM-3 с фосфатидилсеринем (PtdSer), TIM-3 с галектином-9 (Gal-9), TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1) и/или TIM-3 с белком В1 группы высокой подвижности (HMGB1).

[00151] Вариант осуществления 8 представляет собой выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-7.

[00152] Вариант осуществления 9 представляет собой вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по варианту осуществления 8.

[00153] Вариант осуществления 10 представляет собой клетку-хозяин, содержащую вектор по варианту осуществления 9.

[00154] Вариант осуществления 11 представляет собой фармацевтическую композицию, содержащую выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.

[00155] Вариант осуществления 12 представляет собой способ блокирования связывания TIM-3 с фосфатидилсеринем (PtdSer) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по варианту осуществления 11.

[00156] Вариант осуществления 13 представляет собой способ блокирования связывания TIM-3 с галектином-9 (Gal-9) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по варианту 11 осуществления.

[00157] Вариант осуществления 14 представляет собой способ блокирования связывания TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции из варианта осуществления 11.

[00158] Вариант осуществления 15 представляет собой способ блокирования

связывания TIM-3 с белком B1 группы высокой подвижности (HMGB1) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по варианту осуществления 11.

[00159] Вариант осуществления 16 представляет собой способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 11.

[00160] Вариант осуществления 17 представляет собой способ лечения инфекционного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 11.

[00161] Вариант осуществления 18 представляет собой способ лечения воспалительного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 11.

[00162] Вариант осуществления 19 представляет собой способ лечения аутоиммунного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 11.

[00163] Вариант осуществления 20 представляет собой способ лечения нарушения метаболизма у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по варианту осуществления 11.

[00164] Вариант осуществления 21 представляет собой способ получения моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из вариантов осуществления 1-7, включающий культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент, в условиях для продуцирования моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента, и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

[00165] Вариант осуществления 22 представляет собой способ получения фармацевтической композиции, содержащей моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из вариантов осуществления 1-7, включающий объединение моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с получением фармацевтической композиции.

[00166] Вариант осуществления 23 представляет собой способ определения уровня TIM-3 у субъекта, включающий (а) получение образца от субъекта; (b) приведение образца в контакт с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по изобретению; и (с) определение уровня TIM-3 у субъекта.

[00167] Вариант осуществления 24 представляет собой способ по варианту осуществления 23, в котором образец представляет собой образец ткани.

[00168] Вариант осуществления 25 представляет собой способ по варианту осуществления 24, в котором образец ткани представляет собой образец раковой ткани.

[00169] Вариант осуществления 26 представляет собой способ по варианту осуществления 23, в котором образец представляет собой образец крови.

ПРИМЕРЫ

[00170] Пример 1: Идентификация моноклональных анти-TIM-3 антител

[00171] Мышей иммунизировали Fc-мечеными белками внеклеточного домена (ECD) TIM-3 человека и яванского макака и адьювантом. Титр плазмы определяли с помощью иммуноферментного анализа (ELISA). После эвтаназии селезенки и лимфатические узлы собирали для получения гибридом. Гибридомы выращивали в 384-луночных планшетах для тканевых культур, и супернатанты из отдельных лунок подвергали скринингу с помощью ELISA для выявления положительных связывающих агентов для белков ECD TIM-3 человека и яванского макака. Положительные супернатанты также подвергали скринингу в отношении блокирования связывания фосфатидилсерина с рекомбинантным белком TIM-3 и связывания с нативным белком TIM-3 с помощью анализа FACS на клетках HEK293, экспрессирующих TIM-3. Положительные клоны выделяли и секвенировали.

[00172] Последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепей для моноклональных анти-TIM-3 антител представлены в таблицах 1 и 2, а CDR области для моноклональных анти-TIM-3 антител представлены в таблицах 3 и 4. CDR области для моноклональных анти-TIM-3 антител определяли с помощью метода IMGT.

Таблица 1: Последовательности переменных областей тяжелой цепи для моноклональных анти-TIM-3 антител (mAb)

Клоны mAb	VH
20-L10-A	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKVLKW MVWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFC ARDAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:1)
15-L23-A	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCRASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKW MVWINTYTGEPTFADDFKGRFAFSLETSASTAYLQIINLNKEDTATYFCA RDTMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:3)
8-F3-A	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKW MAWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFC ARDLEDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO:5)
7-P15-A	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKW MGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFC ARDLMDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO:7)
18-N1-A	QVQLQQPGAELVRPGVSVKLSCASGYTFTSYWMHWIKQRPEQGLERI GEINPSNGGTNYNEKFKNKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCA RSYYTYDAIDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:9)
18-O22-A	EVQLQQSGPELVKPGASVKVSCASGYTFTSYVMHWVKQKPGQGLEW IGYINPYNDVTKYNEKFKGKATLTSKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYC ARSSDYDDGHWFYFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO:11)
16-L3-A	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYIHWVKQRPGQGLEWI GWIYPGDGSKYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMLLSSLTSEDSAIYFCAT DRYDVAYWGQGLTLTVSA (SEQ ID NO:13)
16-K5-A	QVQLQQSGAELVKPGASVKLSCASGYTFTSSDINWVRQRPEQGLEWIG WIFPGDGSKYNEKFKGKATLTTDKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCAR GLDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO:15)
19-A14-A	DVQLQSGPGLVKPSQSLTCTVTGYSITSDYAWNWRQFPGNILEWWM

	GYISYSGSTSYNPSLKSRSITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARDG RYDYYAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:17)
2-K2-A	QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTTYWMHWVKQRPGQGLE WIGYINPSTGYTEYNQKFKDKSTLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYY CANDHEGGFAYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO:19)
6-H6-A	EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWI GDIDPNYDSTTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTAVYYCA RGGHYRYDGYAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:21)
1-A19-A	EVQLQQFGAELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWI GDIDPNYDITTYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDTAVYYCA RGGHYRYDGYALDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:23)
10-O15-A	QVQLQQSGADLVRPGASVKLSCKALGYTFTDYEMHWVKQTPVHGLEW IGAIHPGSGGTAYNQKFKGKATLADKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYFCS RSYYRYTGYFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO:25)
6-I13-A	EVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYNMNHWVKQSNQKSLEWI GNIDPYYGVTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMQLKSLTSEDSAVYYC ASYSLTYDGYYPFAYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO:27)
5-K4-A	EVQLQQSGPELVKTGASVKISCKASGYSFTAYYIHWVKQSHGKSLEWIG HISCFNGATSYNQKFKGKATFTVDTSSSTAYMQFNLSLTSSEDSAVYYCAR RGDFDRPEFAYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO:29)
12-G18-A	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWRQFPGNKLEW MGYISYSGSTSYNPSLKSRSITRDTSKNQFFLQLNSVTIGDTATYYCASN YRYDYWFFGVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO:31)
10-M21-A	DVQLQESGPTLVKPSQTLSTLCSVTGDSITSGYWNWIRKFPNGKLEYMG YISYSGSTYINPSLKSRSIIRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYCVSGNH FDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:33)
12-M11-A	SQVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYFTSYWMHWVKQRPGQGLE WIGYINPITGYTEYNQKFKDKATLADKSSSTAYMQLSRLTSEDSAVYY CARGVENFDYLYAMDYWGQGASVTVSS (SEQ ID NO:35)
5-C11-A	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSDFYMYWVRQTPEKRLEWV ATISDGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNKNNLYLQMSSLKSEDTAMYYCA SGYYYGSDYVMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:37)
16-J5-A	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSSFGMNWVRQAPEKGLEWV AYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCAR WGRWADFVWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:39)
7-N2-A	QVQLKESGPGLVAPSQSLTCTVSGFSLTGFGVNWVRQPPGKGLEWLG MIWGDGSTDYNSTLKSRLSISKDNSKQVFLKMNSLQTDATARYYCAR DYYGYVGNAMDYWGQGTSVTVSS (SEQ ID NO:41)

VH: варибельная область тяжелой цепи

Таблица 2: Последовательности варибельных областей легкой цепи для моноклональных анти-TIM-3 mAb

Клоны mAb	VL
20-L10-A	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQNTHV PWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:2)
15-L23-A	DIVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQNTHV PWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:4)
8-F3-A	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSQNTHV

	PWTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:6)
7-P15-A	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSP KLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKITRVEAEDLGVYFCSQSIHVP YTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:8)
18-N1-A	DIVMSQSPSSLA VSAGEKVTMSCKSSQSLNLSRTRKKNYLAWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCKQSY NLYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:10)
18-O22-A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVSDYDGESYMNWYQQKPGQPPK LLIYVASNLESGIPVRFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQQSNEDPT WTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:12)
16-L3-A	EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSNLHWYQQKSETSPKPWIYG TSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGA GTKLELK (SEQ ID NO:14)
16-K5-A	DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLGWFQKPGKSPKTLIYR ADRLVDGVPVRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGA GTKLELK (SEQ ID NO:16)
19-A14-A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESDNYGISFMNWFQKPGQPPKL LIFAASNQSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCHQSKEVP WTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:18)
2-K2-A	DILMTQSPSSMSVSLGDTVSTICHASQGISSNIGWLQKPGKSFKGLIYH GTNLEDGVPVRFSGSGSGADYSLTISSLESEDFADYYCVQYAQFPFTFGS GTKLEIK (SEQ ID NO:20)
6-H6-A	DIVLTQSPASSAVSLGQRATFSCRASQSVSTSSYSFMHWYQQKPGQPPK LLIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDTATYYCQHSWEIPP TFGGGTNLEIK (SEQ ID NO:22)
1-A19-A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVSDYDSDSYMNWYQQKPGQPP KLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQQSNEDP FTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:24)
10-O15-A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSASGYSYMHWYQQKPGQPPK LLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQHSRELP FTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:26)
6-I13-A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPK LLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNHPVEEEDAATYYCQHSRELP YTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:28)
5-K4-A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPK LLIYAASNVEGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVP WTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:30)
12-G18-A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESDNYGISFMNWFQKPGQPPKL LIYAESNQGSGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPMEEDDTAMYFCQQSKEVP YTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:32)
10-M21-A	DIQMTQSPSSLSASLGKVTITCKASQDINRYIAWYQHKPGKGPRLLIHY TSTLQPGIPSRFSGSGSGRDYSFISISNLEPEDIATYYCLQYDNLLFTFGSGT KLEIK (SEQ ID NO:34)
12-M11-A	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSISYMHWYQQKPGTSPKRWIYD TSKLAGVPTRFNGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYRTFGGG TKLEIK (SEQ ID NO:36)
5-C11-A	DIVMSQSPSSLA VSAGEKVTMSCKSSQSLNLSRTRKKNYLAWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQADDLAVYYCKQSY NLLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:38)
16-J5-A	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVSDYDSDSYMNWYQQKPGQPP KLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDP PTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:40)

7-N2-A	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMSCKSSQSLLSRTRKKNYLAWYQQKPGQ SPKLLIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCKQSY NHMYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:42)
--------	--

VL: переменная область легкой цепи

Таблица 3: CDR области 1-3 тяжелой цепи анти-TIM-3 mAb

Клоны mAb	HC		
	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
20-L10-A	GYTFTNYG (43)	INTYTGEF (44)	ARDAMDY (45)
15-L23-A	GYTFTNYG (46)	INTYTGEF (47)	ARDTMDY (48)
8-F3-A	GYTFTNYG (49)	INTYTGEF (50)	ARDLEDY (51)
7-P15-A	GYTFTNYG (52)	INTYTGEF (53)	ARDLMDY (54)
18-N1-A	GYTFTSYW (55)	INPSNGGT (56)	ARSYYTYDAIDY (57)
18-O22-A	GYTFTSYV (58)	INPYNDVT (59)	ARSSDYDDGHWFYFDV (60)
16-L3-A	GYTFTSYY (61)	IYPGDGST (62)	ATDRYDVAY (63)
16-K5-A	GYTFTSSD (64)	IFPGDGST (65)	ARGLDY (66)
19-A14-A	GYSITSDYA (67)	ISYSGST (68)	ARDGRYDYAMDY (69)
2-K2-A	GYTFTTYW (70)	INPSTGYT (71)	ANDHEGGFAY (72)
6-H6-A	GYTFTDYN (73)	IDPNYDST (74)	ARGGHYRYDGYAMDY (75)
1-A19-A	GYTFTDYN (76)	IDPNYDIT (77)	ARGGHYRYDGYALDY (78)
10-O15-A	GYTFTDYE (79)	IHPGSGGT (80)	SRSYYRYTGYFDV (81)
6-I13-A	GYSFTGYN (82)	IDPYYGVT (83)	ASYSLTYDGYYPFAY (84)
5-K4-A	GYSFTAYY (85)	ISCFNGAT (86)	ARRGDFDRPEFAY (87)
12-G18-A	GYSITSDYA (88)	ISYSGST (89)	ASNYRYDYWFFGV (90)
10-M21-A	GDSITSGY (91)	ISYSGST (92)	VSGNHFDY (93)
12-M11-A	GYFTSYW (94)	INPITGYT (95)	ARGVENFDYLYAMDY (96)
5-C11-A	GFTFSDFY (97)	ISDGGSYT (98)	ASGYYYGSDYVMDY (99)
16-J5-A	GFTFSDFG (100)	ISSGSSTI (101)	ARWGRWADFDY (102)
7-N2-A	GFSLTGFG (103)	IWGDGST (104)	ARDYYGYVGNAMDY (105)

HC: тяжелая цепь; CDR: определяющая комплементарность область

CDR HC для анти-TIM-3 mAb определяли с помощью метода IMGT (Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209-212).

Таблица 4: CDR области 1-3 легкой цепи анти-TIM-3 mAb

mAb клоны

Клоны mAb	LC		
	CDR1 (SEQ ID NO:)	CDR2 (SEQ ID NO:)	CDR3 (SEQ ID NO:)
20-L10-A	QSLVHSNGNTY (106)	KVS (107)	SQNTHPWT (108)
15-L23-A	QSLVHSNGNTY	KVS (110)	SQNTHPWT (111)

	(109)		
8-F3-A	QSLVHSNGNTY (112)	KVS (113)	SQTTHVPWT (114)
7-P15-A	QSLVHSNGNTY (115)	KVS (116)	SQSIHVPYT (117)
18-N1-A	QSLLSRTRKNTY (118)	WAS (119)	KQSYNLYT (120)
18-O22-A	QSVDDYDGESY (121)	VAS (122)	QQSNEDPTWT (123)
16-L3-A	SSISSN (124)	GTS (125)	QQWSSYPLT (126)
16-K5-A	QDINSY (127)	RAD (128)	LQYDEFPLT (129)
19-A14-A	ESVDNYGISF (130)	AAS (131)	HQSKEVPWT (132)
2-K2-A	QGISSN (133)	HGT (134)	VQYAQFPFT (135)
6-H6-A	QSVSTSSYSF (136)	YAS (137)	QHSWEIPPT (138)
1-A19-A	QSVDDYDGDSY (139)	AAS (140)	QQSNEDPFT (141)
10-O15-A	KSVSASGYSY (142)	LAS (143)	QHSRELPT (144)
6-I13-A	KSVSTSGYSY (145)	LAS (146)	QHSRELPTY (147)
5-K4-A	ESVEYYGTSL (148)	AAS (149)	QQSRKVPWT (150)
12-G18-A	ESVDNYGISF (151)	AES (152)	QQSKEVPYT (153)
10-M21-A	QDINRY (154)	YTS (155)	LQYDNLLFT (156)
12-M11-A	SSISY (157)	DTS (158)	HQRSSYRT (159)
5-C11-A	QSLLSRTRKNTY (160)	WAS (161)	KQSYNLLT (162)
16-J5-A	QSVDDYDGDSY (163)	AAS (164)	QQSNEDPPT (165)
7-N2-A	QSLLSRTRKNTY (166)	WAS (167)	KQSYNHMYT (168)

LC: легкая цепь; CDR: определяющая комплементарность область

CDR LC для анти-TIM-3 mAb определяли с помощью метода IMGT (Lefranc, M.-P. et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27:209-212).

[00173] Пример 2: Анализ связывания TIM-3 с PtdSer с помощью ELISA

[00174] Для определения влияния анти-TIM-3 антител на взаимодействие TIM-3 с фосфатидилсеринем (PtdSer) 384-луночные планшеты для ELISA покрывали PtdSer или фосфатидилхолином (PtdChol) при комнатной температуре. Лунки промывали PBS с добавлением 0,1% Твин-20 и затем блокировали PBS с добавлением 2% бычьего сывороточного альбумина (BSA). Планшеты промывали и затем инкубировали с предварительно уравновешенной смесью очищенных антител (0,03, 0,08, 0,25, 0,74, 2,22, 6,67 или 20 мкг/мл mAb) и TIM3(ECD)-huFc, гибридного белка, содержащего внеклеточный домен (ECD) человеческого TIM-3 и человеческого Fc (huFc), в блокирующем буфере, дополненном CaCl₂. Планшеты промывали и затем инкубировали со вторичным анти-huFc антителом, связанным с HRP. Планшеты промывали, инкубировали с субстратом HRP и считывали, используя микропланшет POLARstar Omega (BMG LABTECH). Анализ выполняли в трех экземплярах. Сигнал связывания TIM-3 с PtdSer определяли как 100% сигнал, а сигнал связывания TIM-3 с PtChol как нулевой сигнал (фон) для определения окна для анализа. Результаты ингибирования связывания человеческого TIM-3 с PtdSer, обеспечиваемого моноклональными анти-TIM-3 антителами (mAb), полученные в анализах с помощью ELISA, показаны на фиг. 1A-1F.

[00175] **Пример 3: FACS анализ связывания очищенных антител**

[00176] Изготавливали рлазмиду, экспрессирующую человеческий TIM-3, и выполняли временную трансфекцию в клетки НЕК293Т. Примерно через 48 часов клетки переносили в 384-луночный V-образный планшет. Клетки промывали охлажденным на льду буфером FACS (PBS, дополненный 1% BSA) и инкубировали с очищенными mAb при осторожном перемешивании при 4°C в течение 45 минут. Клетки промывали буфером FACS и инкубировали со вторичным антимышиным Ab AlexaFluor488. Клетки промывали и анализировали с помощью FACS. Результаты FACS анализа связывания анти-TIM-3 mAb представлены на фиг. 2.

[00177] **Пример 4: Анализ константы диссоциации (KD)**

[00178] Эксперименты по связыванию выполняли на устройстве OCTET Red96 при 25°C. Антитела загружали на биосенсоры Anti-Mouse Fc (AMC). Загруженные датчики погружали в серийные разведения антигена. Кинетические константы рассчитывали с использованием одновалентной (1:1) модели. Буфер для анализа представлял собой PBS, дополненный 0,1% BSA, 500 mM NaCl, 0,02% Твин-20, pH 7,2. Константу диссоциации для связывания антитело-антиген определяли для моноклональных анти-TIM-3 антител, которая показана ниже в таблице 5.

Таблица 5: Значения KD для анти-TIM-3 антител

Клоны mAb clones	KD (нМ)	
	Человеческий TIM-3	TIM-3 яванского макака
5-K4-A	1,8	6,7
16-J5-A	2,7	0,054
10-O15-A	3,1	2,9
18-N1-A	1,1	14
16-K5-A	7,9	6,4
6-I13-A	9,9	5,2
10-M21-A	16	7,5
16-L3-A	14	6,5
1-A19-A	2,2	2,8
15-L23-A	13	8,9
20-L10-A	10	4,1
8-F3-A	1,6	22

[00179] **Пример 5: Гуманизация анти-TIM-3 mAb**

[00180] Мышиные анти-TIM-3 mAb 16-K5-A гуманизировали для уменьшения потенциала иммуногенности при использовании пациентами-людьми. Последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепей (VH и VL) сравнивали с последовательностями человеческих антител, содержащихся в базе данных Protein Data Bank (PDB), и модели гомологии строили с помощью SWISS-моделирования. CDR как тяжелой, так и легкой цепей мышиных mAb прививали на человеческие каркасы, имеющие самую высокую вероятность сохранения надлежащей структуры, вероятно, необходимой для связывания антигена. При необходимости разрабатывали обратные мутации из человеческих остатков до мышиных остатков. Последовательности гуманизированных областей VH и VL показаны в таблице 6. Выполняли слияние

гуманизированных областей VH и VL с константными областями тяжелой цепи и легкой каппа-цепи человеческого IgG4, соответственно. Для временной трансфекции в клетках 293E использовали конструкции, соответствующие последовательностям mAb. Полученное антитело очищали с помощью аффинной колонки с белком А.

Таблица 6: Последовательности переменных областей тяжелой и легкой цепей гуманизированных анти-TIM-3 mAb

VH/VL	Последовательность	SEQ ID NO:
H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSSDINWVRQAPGKG LVWIGW IFPGDGSTKYTPSLKDQATLSTDKAKNTAYLQMNSLRAEDTAVY FCARGL DYWGQGTLLTVSS	171
H2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSSDINWVRQAPGKG LVWIGW IFPGDGSTKYTPSLKDQATLSTDLAKNTAYLQMNSLRAEDTAVY FCARGL DYWGQGTLLTVSS	172
H5	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTASGYTFTSSDINWVRQPPGKGL EWIGWI FPGDGSTKYNPSLKSRAATLSTDKSKNQASLNLDVSAADTAIYFC ARGLDY WGKGSTVTVSS	173
H7	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCKASGYTFTSSDINWVRQPPGKGL EWIGWI FPGDGSTKYNPSLKSRAATLSTDKSKNQASLNLDVSAADTAIYFC CARGLDY WGKGSTVTVSS	174
L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSYLGWFQQKPGKAPK TLYRA DRLVDGVPSRFSGSGSGQDYFTISSSLQPEDIATYYCLQYDEFPLT FGQGTK LEIK	175
L5	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSYLGWFQQKPGKAPK TLYRA	176

DRLVDGVPSRFSGSGSGQDYTFITISLQPEDIATYYCLQYDEFPLT	
FGPGTK	
VDIK	

H1, H2, H5 и H7 представляют собой гуманизированные последовательности VH; L1 и L5 представляют собой гуманизированные последовательности VL. H1L1, H2L1, H5L5 и H7L5 относятся к гуманизированным mAb, сконструированным с использованием комбинации конкретной VH (например, H1) с конкретной VL (например, L1) (с получением H1L1).

[00181] Пример 6: анализ связывания с помощью ELISA химерных и гуманизированных анти-TIM-3 mAb

[00182] Рекомбинантный человеческий TIM-3(ECD)-6His в карбонатном буфере для покрытия наносили на планшет для ELISA при 4°C в течение ночи. Химерный и гуманизированный варианты анти-TIM-3 mAb (H1L1, H2L1, H5L5 и H7L5) добавляли в планшет в различных концентрациях после промывки и инкубации в течение 1 часа при комнатной температуре. Планшет промывали и определяли связывание антител путем добавления античеловеческого IgG, конъюгированного с пероксидазой хрена (hIgG-HRP) (ThermoFisher Scientific, Cat #: 31410), и инкубировали в течение 60 минут. После промывки выполняли ELISA с использованием одноэтапного раствора для обнаружения (ThermoFisher Scientific, Cat #: 34028), который измеряли как поглощение при 450 нм. Результаты показаны на фиг. 3А и 3В.

[00183] Специалистам в данной области техники должно быть понятно, что в описанные выше варианты осуществления могут быть внесены изменения без отклонения от общей концепции изобретения. Следовательно, предполагается, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными раскрытыми вариантами осуществления и охватывает модификации, находящиеся в пределах сущности и объема настоящего изобретения, определенных настоящим описанием.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное моноклональное антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, содержащий определяющую комплементарность область 1 тяжелой цепи (HCDR1), HCDR2, HCDR3, определяющую комплементарность область 1 легкой цепи (LCDR1), LCDR2 и LCDR3, имеющие полипептидные последовательности:

- (1) SEQ ID NO:43, 44, 169, 106, 107 и 170, соответственно;
- (2) SEQ ID NO:55, 56, 57, 118, 119 и 120, соответственно;
- (3) SEQ ID NO:58, 59, 60, 121, 122 и 123, соответственно;
- (4) SEQ ID NO:61, 62, 63, 124, 125 и 126, соответственно;
- (5) SEQ ID NO:64, 65, 66, 127, 128 и 129, соответственно;
- (6) SEQ ID NO:67, 68, 69, 130, 131 и 132, соответственно;
- (7) SEQ ID NO:70, 71, 72, 133, 134 и 135, соответственно;
- (8) SEQ ID NO:73, 74, 75, 136, 137 и 138, соответственно;
- (9) SEQ ID NO:76, 77, 78, 139, 140 и 141, соответственно;
- (10) SEQ ID NO:79, 80, 81, 142, 143 и 144, соответственно;
- (11) SEQ ID NO:82, 83, 84, 145, 146 и 147, соответственно;
- (12) SEQ ID NO:85, 86, 87, 148, 149 и 150, соответственно;
- (13) SEQ ID NO:88, 89, 90, 151, 152 и 153, соответственно;
- (14) SEQ ID NO:91, 92, 93, 154, 155 и 156, соответственно;
- (15) SEQ ID NO:94, 95, 96, 157, 158 и 159, соответственно;
- (16) SEQ ID NO:97, 98, 99, 160, 161 и 162, соответственно;
- (17) SEQ ID NO:100, 101, 102, 163, 164 и 165, соответственно; или
- (18) SEQ ID NO:103, 104, 105, 166, 167 и 168, соответственно;

причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связывается с TIM-3, предпочтительно человеческим TIM-3.

2. Выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 1, содержащее переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39 или 41, или переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 или 42.

3. Выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 1 или п. 2, содержащее:

а. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:1, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:2;

б. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:3, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:4;

последовательность SEQ ID NO:31, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:32;

д. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:33, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:34;

е. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:35, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:36;

ж. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:37, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:38;

з. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:39, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:40; или

и. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:41, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:42.

4. Выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-3, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является химерным.

5. Выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-4, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент является человеческим или гуманизированным.

6. Выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по п. 5, содержащее:

а. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:171, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:175;

б. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:172, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:175;

в. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:173, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:176; или

г. переменную область тяжелой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:174, и переменную область легкой цепи, имеющую полипептидную последовательность SEQ ID NO:176.

7. Выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп. 1-6, причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент способны блокировать связывание TIM-3 с фосфатидилсерином (PtdSer), TIM-3 с галектином-9 (Gal-

9), TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1) и/или TIM-3 с белком В1 группы высокой подвижности (HMGB1).

8. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-7.

9. Вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по п.8.

10. Клетка-хозяин, содержащая вектор по п.9.

11. Фармацевтическая композиция, содержащая выделенное моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.

12. Способ блокирования связывания TIM-3 с фосфатидилсерином (PtdSer) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

13. Способ блокирования связывания TIM-3 с галектином-9 (Gal-9) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

14. Способ блокирования связывания TIM-3 с карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 1 (CEACAM1) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

15. Способ блокирования связывания TIM-3 с белком В1 группы высокой подвижности (HMGB1) у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

16. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

17. Способ лечения инфекционного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

18. Способ лечения воспалительного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

19. Способ лечения аутоиммунного заболевания у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

20. Способ лечения нарушения метаболизма у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по п.11.

21. Способ получения моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента по любому из пп.1-7, включающий культивирование клетки, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент, в условиях для продуцирования моноклонального антитела или антигенсвязывающего фрагмента и выделение антитела или антигенсвязывающего фрагмента из клетки или культуры.

22. Способ получения фармацевтической композиции, содержащей моноклональное антитело или антигенсвязывающий фрагмент по любому из пп.1-7, включающий объединение моноклонального антитела или антигенсвязывающего

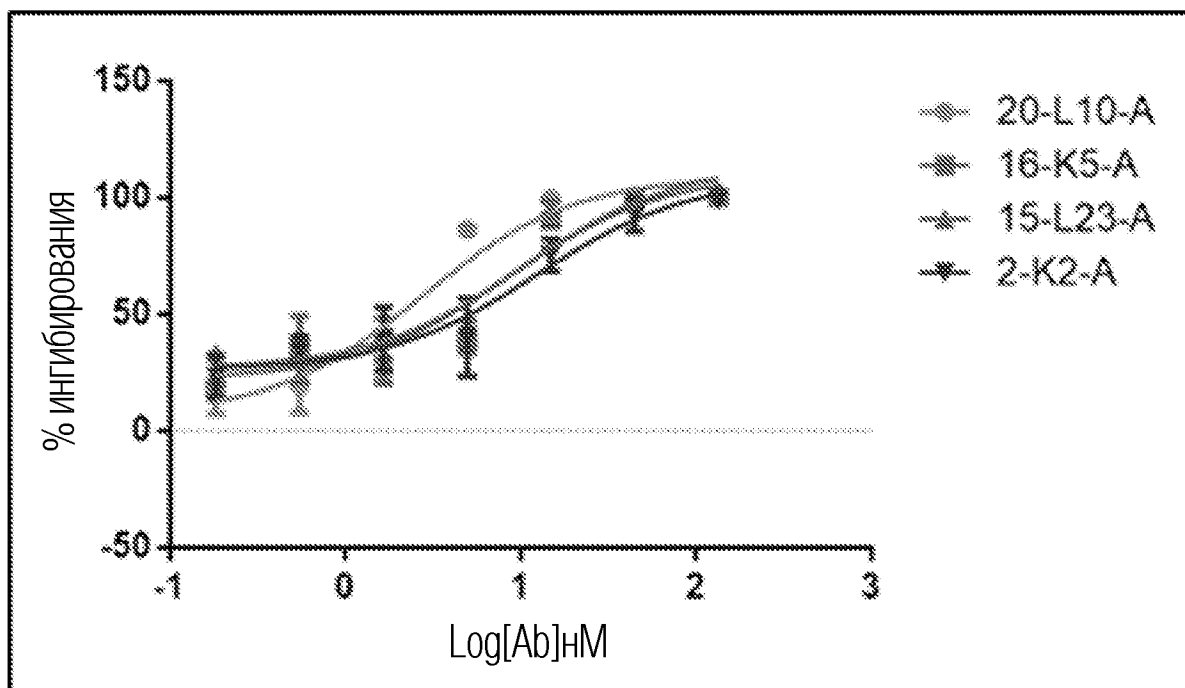
фрагмента с фармацевтически приемлемым носителем с получением фармацевтической композиции.

23. Способ определения уровня ТИМ-3 у субъекта, включающий (а) получение образца от субъекта; (b) приведения образца в контакт с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом по изобретению; и (с) определение уровня ТИМ-3 у субъекта.

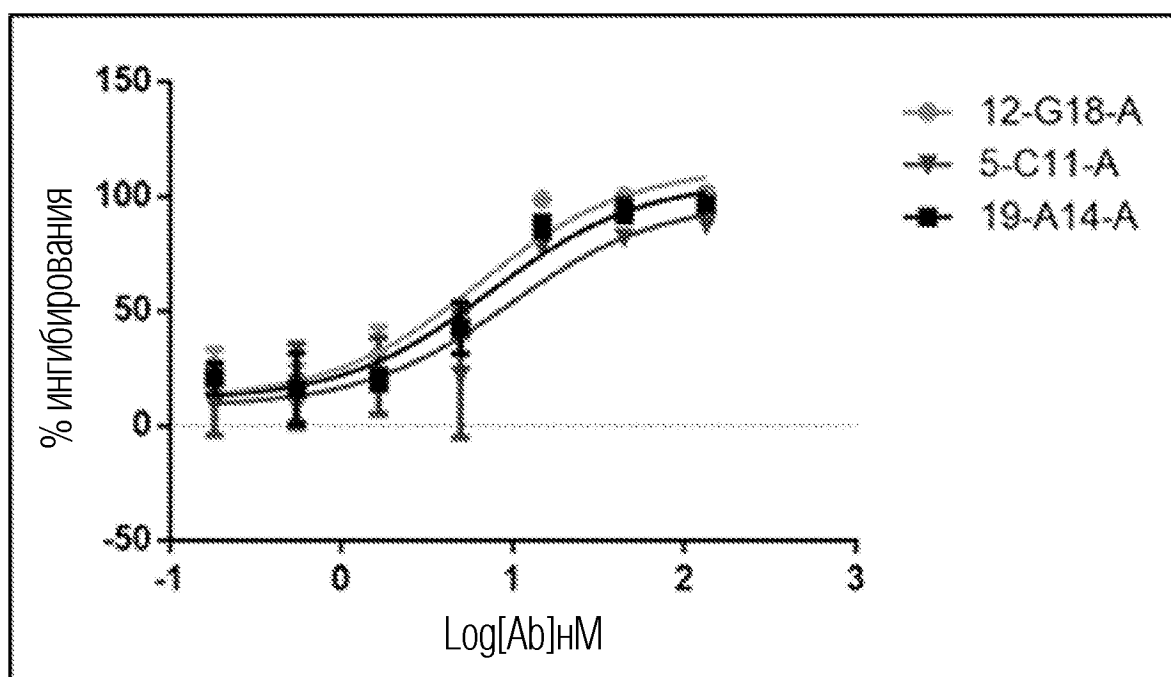
24. Способ по п. 23, в котором клетка представляет собой образец ткани.

25. Способ по п. 24, в котором образец ткани представляет собой образец раковой ткани.

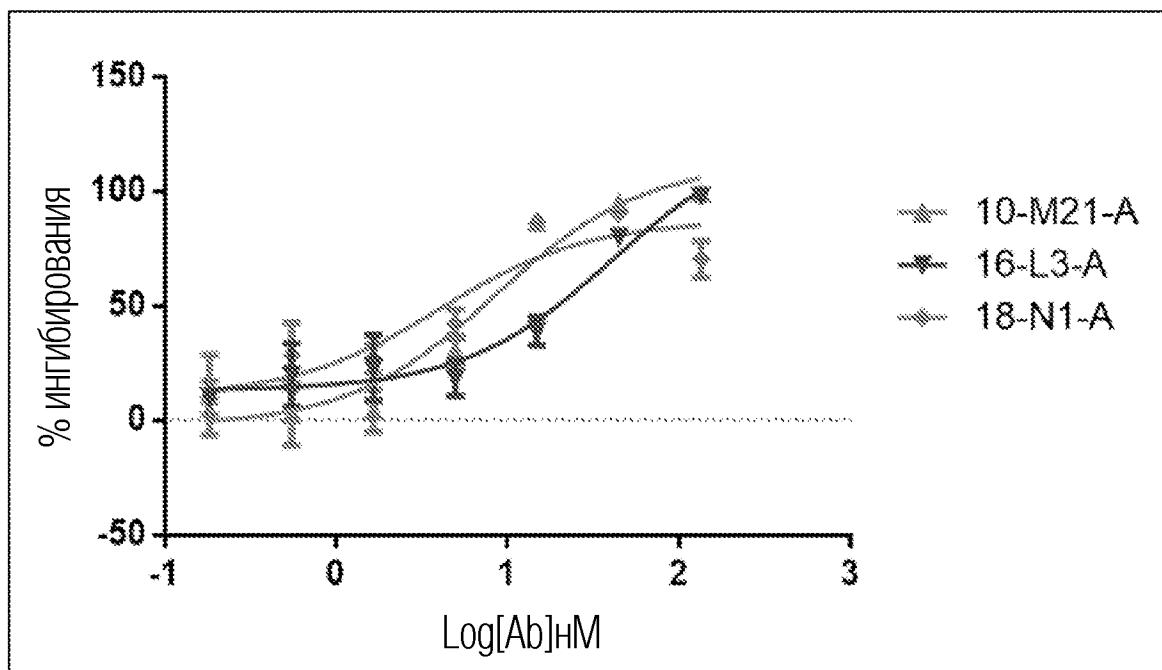
26. Способ по п. 23, в котором образец представляет собой образец крови.



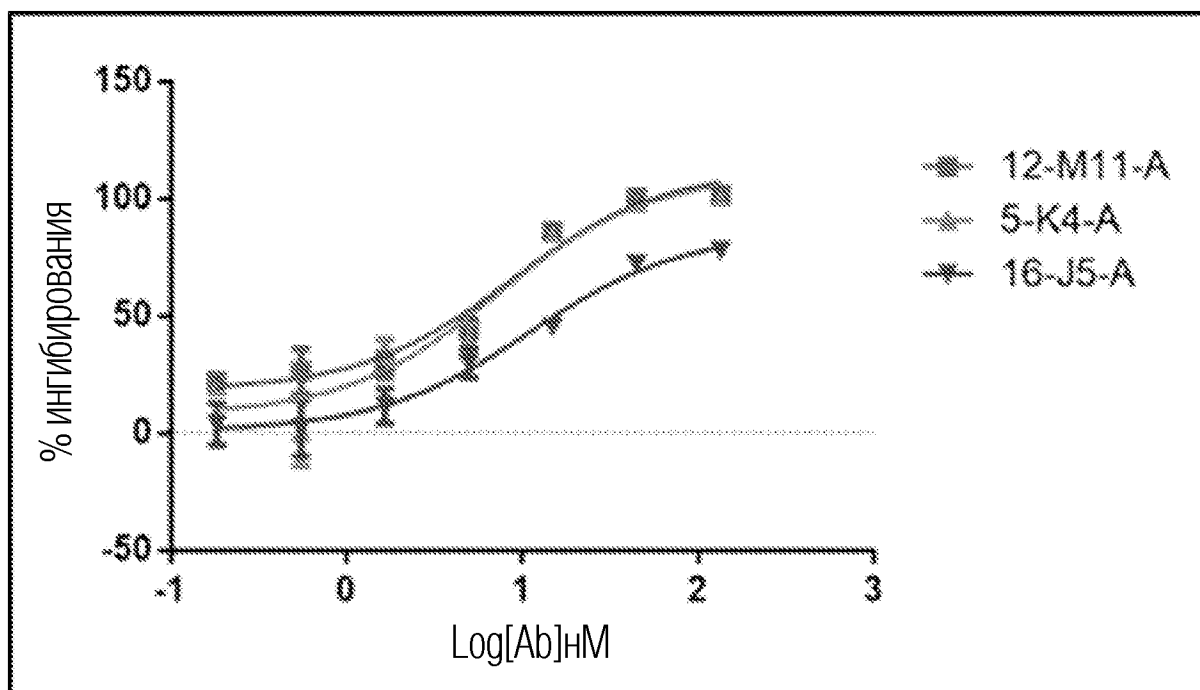
ФИГ. 1А



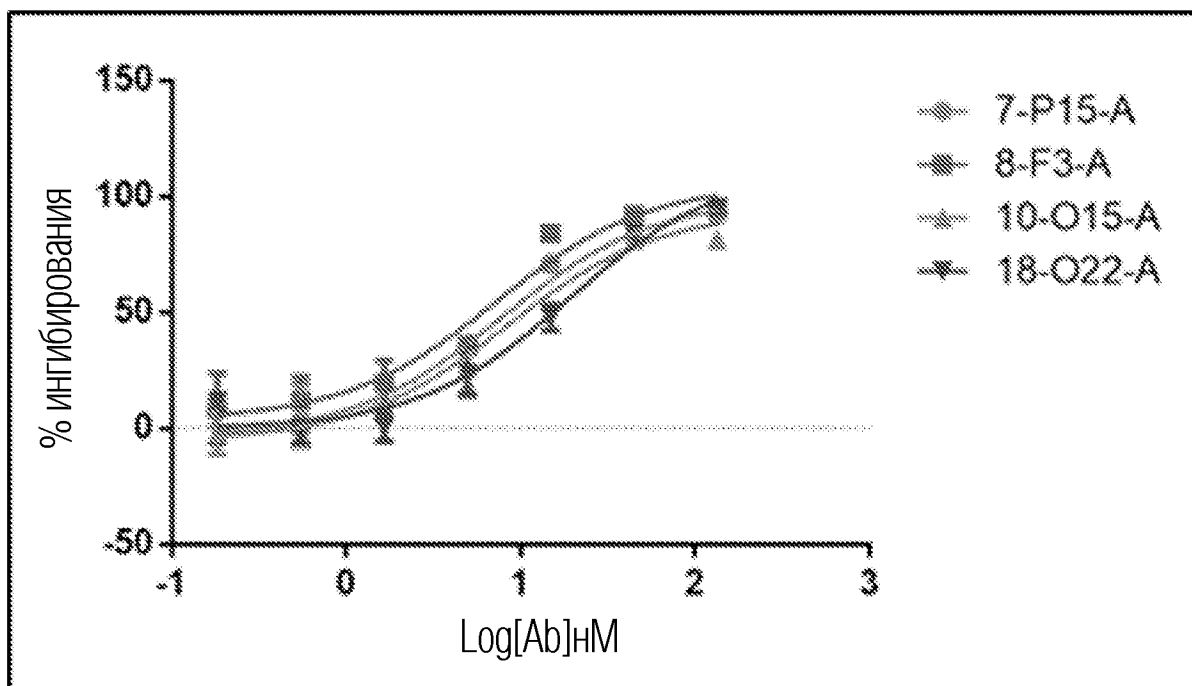
ФИГ. 1В



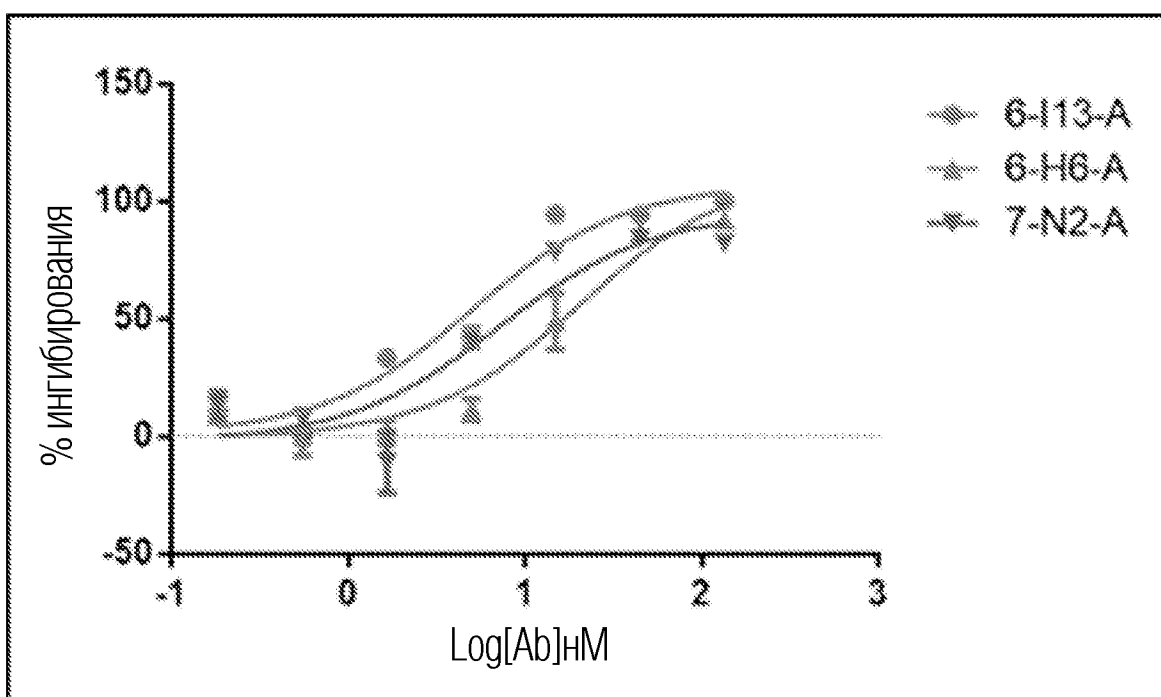
ФИГ. 1С



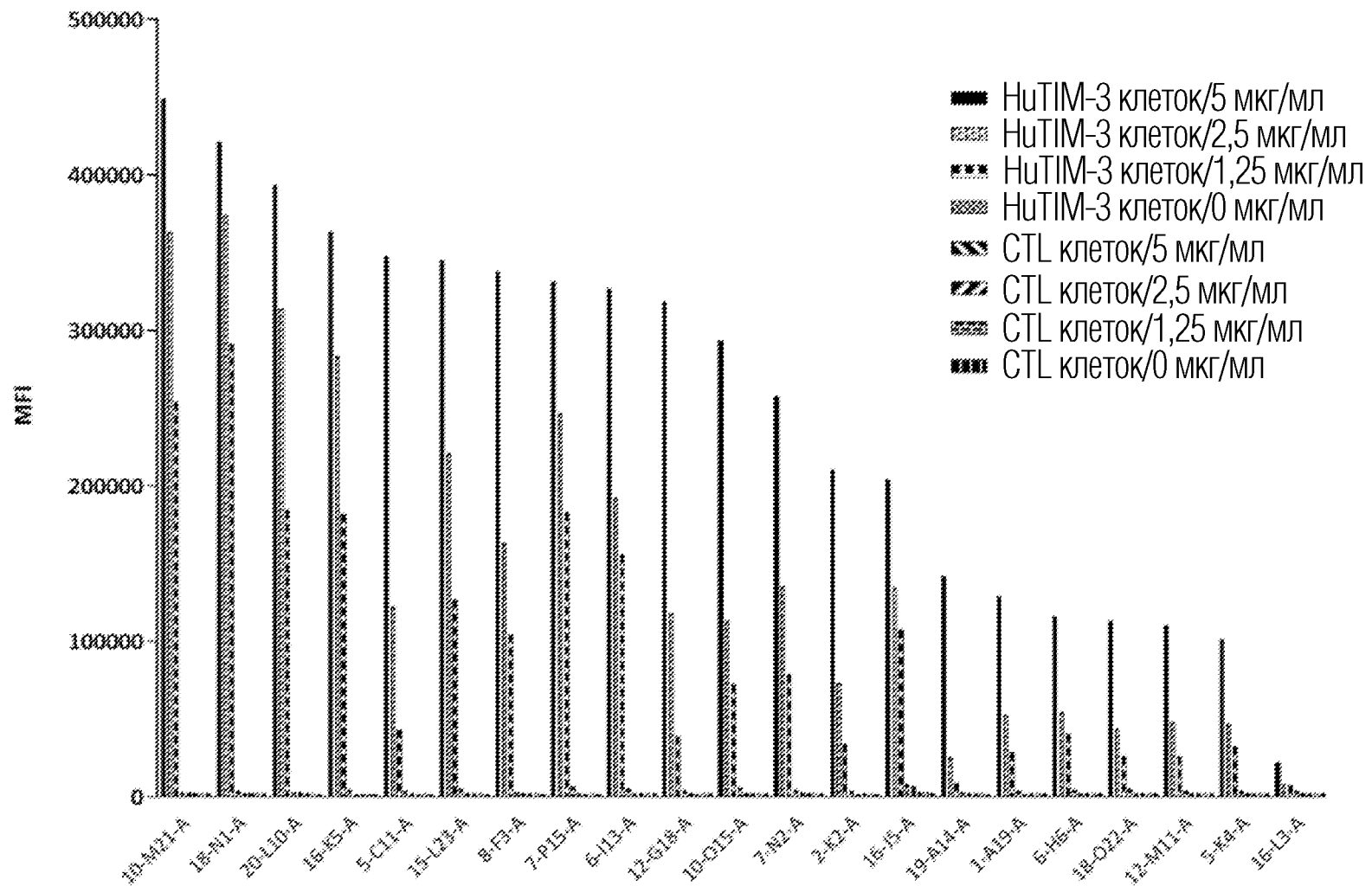
ФИГ. 1D



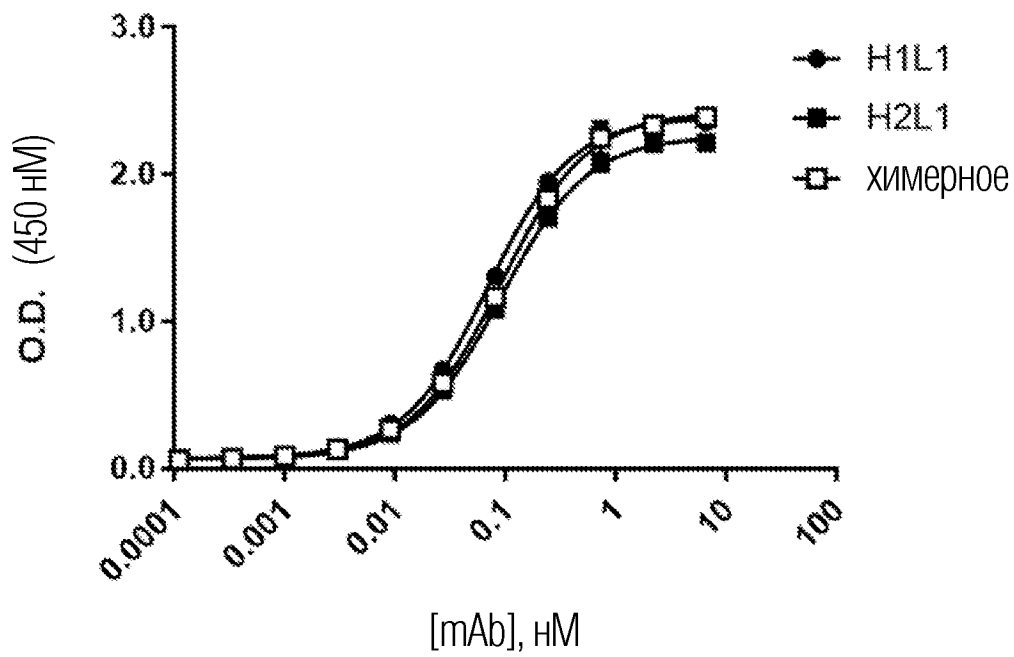
ФИГ. 1Е



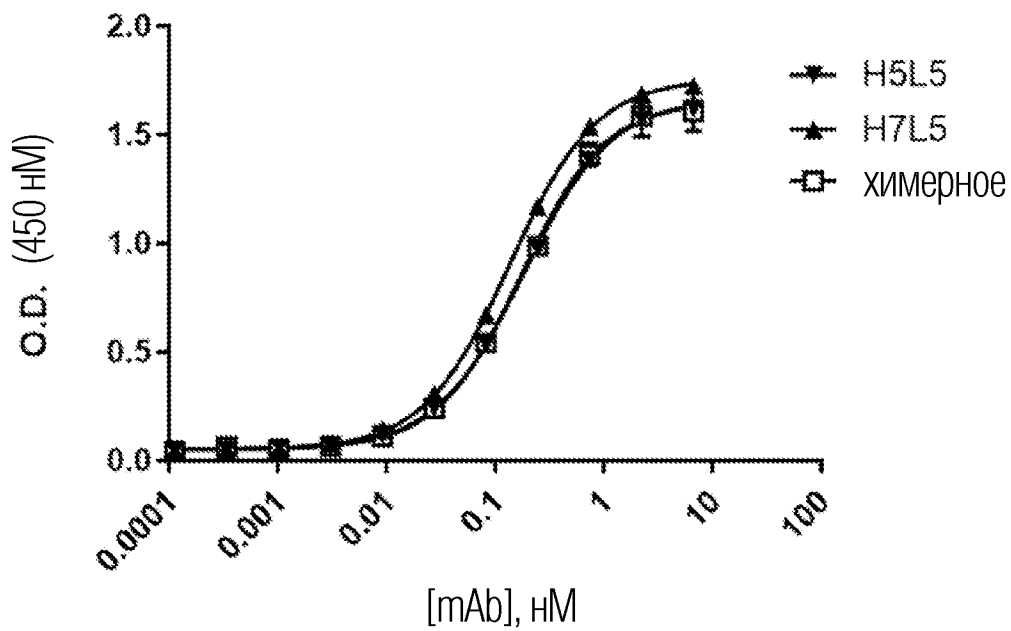
ФИГ. 1F



ФИГ. 2



ФИГ. 3А



ФИГ. 3В