



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2022.05.24

(21) Номер заявки

201691556

(22) Дата подачи заявки

2015.01.30

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)

(54) МОЛЕКУЛЫ АНТИТЕЛ К ТИМ-3 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 61/934,469; 62/094,912

(32) 2014.01.31; 2014.12.19

(33) US

(43) 2016.12.30

(86) PCT/US2015/013913

(87) WO 2015/117002 2015.08.06

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

НОВАРТИС АГ (СН); ДАНА-
ФАРБЕР КЭНСЕР ИНСТИТЮТ,
ИНК.; ЧИЛДРЕН'З МЕДИКАЛ
СЕНТЕР КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:

Сабатос-Пейтон Кэтрин Энн (US),
Браннетти Барбара (СН), Харрис
Алан С. (US), Хубер Томас, Пицонка
Томас (СН), Матараса Дженнифер
Мари, Блэттлер Вальтер А., Хиклин
Даниэл Дж., Васкес Максимиляно,
Декруифф Роземари Х., Умецу
Дэйл Т., Фриман Гордон Джеймс, Ху
Тяньцэнь, Таресзка Джон А., Сюй
Фанминь (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) EP-A1-2581113

EP-A1-2417984

FUKUSHIMA ET AL: "Antibodies to T-cell Ig
and mucin domain-containing proteins (Tim)-1 and -3
suppress the induction and progression of murine allergic
conjunctivitis", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL
RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS
INC. ORLANDO, FL, US, vol. 353, no. 1, 22 December
2006 (2006-12-22), pages 211-216, XP005732939, ISSN:

0006-291X, DOI: 10.1016/J.BBRC.2006.12.023 the whole document

JAINA PATEL ET AL: "Taming dendritic cells
with TIM-3: another immunosuppressive strategy used by
tumors", IMMUNOTHERAPY, vol. 4, no. 12, 1 December
2012 (2012-12-01), pages 1795-1798, XP055183925, ISSN:
1750-743X, DOI: 10.2217/imt.12.126 the whole document

L. YANG ET AL: "Lack of TIM-3
Immunoregulation in Multiple Sclerosis", THE JOURNAL
OF IMMUNOLOGY, vol. 180, no. 7, 19 March 2008
(2008-03-19), pages 4409-4414, XP055183939, ISSN:
0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.180.7.4409 the whole
document

WILLIAM D. HASTINGS ET AL: "TIM-3 is
expressed on activated human CD4+ T cells and regulates
Th1 and Th17 cytokines", EUROPEAN JOURNAL
OF IMMUNOLOGY, vol. 39, no. 9, 12 September
2009 (2009-09-12), pages 2492-2501, XP055073176,
ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/eji.200939274 the whole
document

JENNIFER KEARLEY ET AL: "Th-2 driven,
allergen-induced airway inflammation is reduced
after treatment with anti-Tim-3 antibody in vivo",
THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE,
ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, vol.
204, no. 6, 1 June 2007 (2007-06-01), pages
1289-1294, XP008133823, ISSN: 0022-1007, DOI:
10.1084/JEM.20062093 the whole document

YOSHIKANE KIKUSHIGE ET AL: "TIM-3 Is
a Promising Target to Selectively Kill Acute Myeloid
Leukemia Stem Cells", CELL STEM CELL, ELSEVIER,
CELL PRESS, AMSTERDAM, NL, vol. 7, no. 6, 6 October
2010 (2010-10-06), pages 708-717, XP028211787, ISSN:
1934-5909, DOI: 10.1016/J.STEM.2010.11.014 [retrieved
on 2010-11-17] the whole document

JU Y ET AL: "T cell immunoglobulin- and mucin-
domain-containing molecule-3 (Tim-3) mediates natural
killer cell suppression in chronic hepatitis B", JOURNAL
OF HEPATOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol.
52, no. 3, 1 March 2010 (2010-03-01), pages 322-329,
XP027260463, ISSN: 0168-8278 [retrieved on 2010-01-06]
the whole document

(57) Описаны молекулы антител, которые специфически связываются с ТИМ-3. Молекулы антител против ТИМ-3 можно использовать для лечения, предупреждения и/или диагностики иммунных, злокачественных или инфекционных состояний и/или нарушений.

Родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США № 61/934469, поданной 31 января 2014 года, и предварительной заявки США № 62/094912, поданной 19 декабря 2014 года, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

Список последовательностей

Настоящая заявка содержит список последовательностей, который был предоставлен в электронной форме в формате ASCII и включен в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Указанная копия ASCII, созданная 26 января 2015 года, названа C2160-7002WO_SL.txt и имеет размер 208625 байт.

Уровень техники

Активация наивных CD4⁺ Т-хелперных клеток приводит к развитию по меньшей мере двух отдельных эффекторных популяций: Th1-клеток и Th2-клеток. См. US 7470428, Mosmann T R et al. (1986) *J Immunol* 136:2348-57; Mosmann T R et al. (1996) *Immunol Today* 17:138-46; Abbas A K et al. (1996) *Nature* 383:787-793. Th1-клетки продуцируют цитокины (например, интерферон-гамма, интерлейкин-2, фактор некроза опухоли альфа и лимфотоксин), которые обычно ассоциированы с клеточно-опосредуемыми иммунными ответами против внутриклеточных патогенов, реакциями гиперчувствительности замедленного типа (Sher A et al. (1992) *Annu Rev Immunol* 10:385-409) и индукцией орган-специфических аутоиммунных заболеваний. Liblau R S et al. (1995) *Immunol Today* 16:34-38. Th2-клетки продуцируют цитокины (например, IL-4, IL-10 и IL-13), которые являются чрезвычайно важными для контроля внеклеточных глистных инвазий и индуцируют atopические и аллергические заболевания. Sher A et al. (1992) *Annu Rev Immunol* 10:38 5-409. В дополнение к их отличающимся ролям при заболеваниях, Th1- и Th2-клетки перекрестно регулируют экспансию и функции друг друга. Таким образом, предпочтительная индукция Th2-клеток ингибирует аутоиммунные заболевания (Kuchroo V K et al. (1995) *Cell* 80:707-18; Nicholson L B et al. (1995) *Immunity* 3:397-405), и преобладающая индукция Th1-клеток может регулировать индукцию астмы, атопии и аллергии. Lack G et al. (1994) *J Immunol* 152:2546-54; Hofstra C L et al. (1998) *J Immunol* 161:5054-60.

TIM-3 представляет собой трансмембранный рецепторный белок, который экспрессируется, например, на Th1 (Т-хелпер 1) CD4⁺ клетках и цитотоксических CD8⁺ Т-клетках, которые секретируют IFN- γ . TIM-3, как правило, не экспрессируется на наивных Т-клетках, однако активируется на активированных эффекторных Т-клетках. TIM-3 играет роль в регуляции иммунитета и толерантности *in vivo* (см. Hastings et al., *Eur J Immunol*. 2009 Sep; 39(9):2492-501). В данной области существует потребность в новых молекулах, которые регулируют функцию TIM-3 и функцию экспрессирующих TIM-3 клеток.

Сущность изобретения

В настоящем описании описаны молекулы антител, которые связываются с TIM-3 (Т-клеточный иммуноглобулиновый и домен 3 муцина) с высокой аффинностью и специфичностью. Также предусматриваются молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие молекулы антител, экспрессирующие векторы, клетки-хозяева и способы получения молекул антител. Также предусматриваются иммуноконъюгаты, молекулы полиспецифических или биспецифических антител и фармацевтические композиции, содержащие молекулы антител. Молекулы антител против TIM-3, описанные в настоящем описании, можно использовать (отдельно или в комбинации с другими средствами или терапевтическими режимами) для лечения, предупреждения и/или диагностики иммунных нарушений, злокачественной опухоли, инфекционного заболевания, болезни Крона, сепсиса, SIRS (синдром системного воспалительного ответа) и гломерулонефрита. Таким образом, в настоящем описании описаны композиции и способы для обнаружения TIM-3, а также способы лечения различных заболеваний, включая злокачественную опухоль и иммунные нарушения, с использованием молекул антител против TIM-3.

Таким образом, в определенных аспектах настоящее изобретение относится к молекуле антитела (например, выделенная или рекомбинантная молекула антитела), имеющей одно или несколько (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 или все) из следующих свойств (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), (j), (k), (l), (m), (n), (o), (p) или (q):

(a) связывается с TIM-3, например TIM-3 человека, с высокой аффинностью, например, с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 нМ, как правило, приблизительно 10 нМ и более часто приблизительно 1-0,1 нМ или сильнее, например менее чем приблизительно 0,2, 0,16, 0,15, 0,1, 0,075, 0,05 или 0,042 нМ,

(b) по существу связывается с TIM-3 не являющегося человеком примата, например TIM-3 яванского макака, с константой диссоциации (K_D) менее чем приблизительно 100 нМ, как правило, приблизительно 10 нМ, и, более конкретно, приблизительно 3-0,3 нМ или сильнее, например 1-0,1 нМ или сильнее, например менее чем приблизительно 1 нМ, 0,75 нМ или 0,68 нМ,

(c) ингибирует связывание TIM-3 с лигандом TIM-3, например фосфатидилсерин (PtdSer), HMGB1 или CEACAM-1,

(d) усиливает секрецию IFN-гамма и/или TNF-альфа и/или пролиферацию Т-клеток, например CD4⁺ или CD8⁺ Т-клеток, например CD4⁺ Т-клеток, стимулированных антителом против CD3/CD28 в присутствии IL-12, или в анализах культур аутологических Т-клеток-DC со стимуляцией антителом против CD3/CD28,

(e) усиливает активность цитотоксических НК-клеток (естественные киллеры) против клетки-мишени (например, клетки K562), например, в анализах *in vitro*,

(f) усиливает способность макрофагов или антигенпредставляющих клеток к стимуляции Т-клеточного ответа, например увеличению секреции ИЛ-12 антигенпредставляющими клетками,

(g) связывается специфически с эпитопом на ТИМ-3, например с тем же или сходным эпитопом, что и эпитоп, распознаваемый молекулой антитела, описанной в настоящем описании, например молекулой антитела мыши против ТИМ-3 или гуманизированной молекулой антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, например молекулой антитела согласно табл. 1-4,

(h) демонстрирует такую же или сходную аффинность или специфичность связывания или и аффинность, и специфичность, что и молекула антитела согласно табл. 1-4,

(i) демонстрирует такую же или сходную аффинность или специфичность связывания или и аффинность, и специфичность, что и молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи), описанная в табл. 1-4,

(j) демонстрирует такую же или сходную аффинность или специфичность связывания или и аффинность, и специфичность, что и молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи), содержащая аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1-4,

(g) связывается специфически с эпитопом на ТИМ-3, например с тем же или сходным эпитопом, что и эпитоп, распознаваемый молекулой антитела, описанной в настоящем описании, например молекулой антитела мыши против ТИМ-3 или гуманизированной молекулой антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, например молекулой антитела согласно табл. 1-4,

(h) демонстрирует такую же или сходную аффинность или специфичность связывания или и аффинность, и специфичность, что и молекула согласно табл. 1-4,

(i) демонстрирует такую же или сходную аффинность или специфичность связывания или и аффинность, и специфичность, что и молекула (например, переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи), описанная в табл. 1-4,

(j) демонстрирует такую же или сходную аффинность или специфичность связывания или и аффинность, и специфичность, что и молекула антитела (например, переменная область тяжелой цепи и переменная область легкой цепи), содержащая аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1-4,

(k) ингибирует, например конкурентно ингибирует, связывание второй молекулы антитела с ТИМ-3, где вторая молекула антитела представляет собой молекулу антитела, описанную в настоящем описании, например молекулу антитела, выбранную из табл. 1-4,

(l) связывает тот же (или по существу тот же) или перекрывающийся (или по существу перекрывающийся) эпитоп, что и вторая молекула антитела к ТИМ-3, где вторая молекула антитела представляет собой молекулу антитела, описанную в настоящем описании, например молекулу антитела, выбранную из табл. 1-4,

(m) конкурирует за связывание и/или связывает тот же (или по существу тот же) или перекрывающийся (или по существу перекрывающийся) эпитоп, что и вторая молекула антитела к ТИМ-3, где вторая молекула антитела представляет собой молекулу антитела, описанную в настоящем описании, например молекулу антитела, выбранную из табл. 1-4, например, как определяют способами, описанными в примере 11,

(n) имеет одно или несколько биологических свойств молекулы антитела, описанной в настоящем описании, например молекулы антитела, выбранной из табл. 1-4,

(o) имеет одно или несколько фармакокинетических свойств молекулы антитела, описанной в настоящем описании, например молекулы антитела, выбранной из табл. 1-4,

(p) модулирует (например, усиливает или ингибирует) один или несколько видов активности ТИМ-3, например приводит к одному или нескольким из: усиление секреции ИФН-гамма и/или TNF-альфа в Т-клетках; усиление пролиферации в Т-клетках, например CD4+ или CD8+ Т-клетках; усиление цитотоксической активности НК-клеток; снижение супрессорной активности регуляторных Т-клеток (Treg); или усиление иммуностимулирующих свойств макрофагов и/или антигенпредставляющих клеток, например усиление секреции цитокинов, например секреции ИЛ-12; или

(q) связывается с одним или несколькими остатками из: двух остатков, соседних с N-концом А-цепи (остатки Val24 и Glu25 в ТИМ-3 человека), петли ВС, петли СС', F-цепи, петли FG и G-цепи ТИМ-3, или одним или несколькими остатками из комбинации двух, трех, четырех, пяти или всех из: двух остатков, соседних с N-концом А-цепи (остатки Val24 и Glu25 в ТИМ-3 человека), петли ВС, петли СС', F-цепи, петли FG и G-цепи ТИМ-3, например, где связывание анализируют с использованием ELISA или Вiasoge.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела связывается ТИМ-3 с высокой аффинностью, например с K_D , которая по меньшей мере приблизительно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% ниже, чем K_D молекулы антитела мыши против ТИМ-3, например молекулы антитела мыши против ТИМ-3, описанной в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии молекулы антитела против ТИМ-3 является более высоким, например, по меньшей мере приблизительно в 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз

более высоким, чем уровень экспрессии молекулы антитела мыши, например молекулы антитела мыши TIM-3 против или химерной молекулы антитела против TIM-3, описанной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела экспрессируется в клетках млекопитающих, например клетках грызунов.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 снижает один или несколько видов активности TIM-3 с IC₅₀ (концентрация при 50% ингибировании), которая является более низкой, например по меньшей мере приблизительно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% более низкой, чем IC₅₀ молекулы антитела мыши против TIM-3, например молекулы антитела мыши против TIM-3, описанной в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления активность TIM-3 представляет собой связывание TIM-3 с одним или несколькими (например, одним, двумя, тремя, четырьмя или всеми) из лигандов TIM-3, описанных в настоящем описании, например одним, двумя или более (всеми) из PtdSer, CEACAM-1 или HMGB1.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с поверхностными (например, один, два, три, пять, восемь, десять, пятнадцать или более) непрерывными или прерывающимися (например, несмежными) аминокислотными остатками TIM-3, выбранными из Val24, Glu25, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126 и/или Leu127.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с поверхностными (например, один, два, три, пять, восемь, десять, пятнадцать или более) непрерывными или прерывающимися (например, несмежными) аминокислотными остатками TIM-3, выбранными из Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 и/или Val128, например, как подробно описано в табл. 13.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с поверхностными (например, один, два, три, пять, восемь, десять, пятнадцать или более) непрерывными или прерывающимися (например, несмежными) аминокислотными остатками TIM-3, выбранными из Glu23, Val24, Glu25, Tyr26, Thr41, Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49, Pro50, Val51, Cys52, Trp53, Gly54, Lys55, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126 и/или Leu127.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с поверхностными (например, один, два, три, пять, восемь, десять, пятнадцать или более) непрерывными или прерывающимися (например, несмежными) аминокислотными остатками TIM-3, выбранными из Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49, Pro50, Val51, Cys52, Trp53, Gly54, Lys55, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 и/или Val128.

В других вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 конкурирует с CEACAM-1 за связывание с TIM-3. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с одним, двумя или несколькими (всеми) из Cys58, Asn119 и Lys122 TIM-3, например вытесняет CEACAM-1 или конкурирует с ним за связывание с этими остатками. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 уменьшает или блокирует образование водородной связи между Lys122 TIM-3 и Asn42 CEACAM-1, например, по меньшей мере приблизительно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%, по сравнению с образованием водородной связи между Lys122 TIM-3 и Asn42 CEACAM-1 в отсутствие молекулы антитела против TIM-3.

В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с PtdSer-связывающей петлей TIM-3. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, по меньшей мере с двумя PtdSer-связывающими петлями TIM-3, например петлей FG и петлей CC' TIM-3 (например, зависимый от иона металла лиганд-связывающий участок (MILIBS)). Например, карбоксильная группа PtdSer может связываться с петлей CC' TIM-3 и аминокислотная группа PtdSer может связываться с петлей FG TIM-3. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 снижает или предупреждает опосредуемое PtdSer проникновение TIM-3 через мембрану.

В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 конкурирует с HMGB1 за связывание с TIM-3. Например, она снижает связывание HMGB1 с остатком 62 TIM-3 (Q в TIM-3 мыши, E в TIM-3 человека), например, по меньшей мере приблизительно на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% по сравнению со связыванием HMGB1 с остатком 62 TIM-3 в отсутствие молекулы антитела против TIM-3.

В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 не конкурирует с лигандом галактином-9 (Gal-9) за связывание с TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 имеет увеличенную стабильность, например по меньшей мере приблизительно является в 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз более стабильной *in vivo* или *in vitro*, чем молекула антитела против TIM-3 мыши или гуманизованная молекула антитела против TIM-3, например молекула антитела против TIM-3 мыши или гуманизован-

ная молекула антитела против ТИМ-3, описанная в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит по меньшей мере одну антигенсвязывающую область, например вариабельную область или ее антигенсвязывающий фрагмент, из антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) вышеупомянутым последовательностям.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит по меньшей мере одну, две, три или четыре вариабельных области из антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) вышеупомянутым последовательностям.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит по меньшей мере одну или две вариабельных области тяжелой цепи из антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) вышеупомянутым последовательностям.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит по меньшей мере одну или две вариабельных области легкой цепи из антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) вышеупомянутым последовательностям.

В одном варианте осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает константную область тяжелой цепи для IgG4, например IgG4 человека. В другом варианте осуществления IgG4 человека включает замену (например, замена Ser на Pro) в положении 228 в соответствии с нумерацией EU или в положении 108 SEQ ID NO: 108 или 110. В другом варианте осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает константную область тяжелой цепи для IgG1, например, IgG1 человека. В одном варианте осуществления IgG1 человека включает замену (например, замена Asn на Ala) в положении 297 в соответствии с нумерацией EU или в положении 180 SEQ ID NO: 112. В одном варианте осуществления IgG1 человека включает замену (например, замена Asp на Ala) в положении 265 в соответствии с нумерацией EU или в положении 148 SEQ ID NO: 113, замену (например, замена Pro на Ala) в положении 329 в соответствии с нумерацией EU, или в положении 212 SEQ ID NO: 113, или в обоих из них. В одном варианте осуществления IgG1 человека включает замену (например, замена Leu на Ala) в положении 234 в соответствии с нумерацией EU или в положении 117 SEQ ID NO: 114, замену (например, замена Leu на Ala) в положении 235 в соответствии с нумерацией EU, или в положении 118 SEQ ID NO: 114, или обе из них. В одном варианте осуществления константная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1-5, или последовательность, по существу идентичную (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичную) ей.

В другом варианте осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает константную область легкой цепи каппа, например константную область легкой цепи каппа человека. В одном варианте осуществления константная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1-5, или последовательность, по существу идентичную (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичную) ей.

В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 включает константную область тяжелой цепи IgG4, например IgG4 человека, и константную область легкой цепи каппа, например константную область легкой цепи каппа человека, например константную область тяжелой и легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1-5, или последовательность, по существу идентичную (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичную) ей. В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 включает константную область тяжелой цепи IgG1, например IgG1 человека, и константную область легкой цепи каппа, например константную область легкой цепи каппа человека, например константную область тяжелой и легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, указанную в табл. 1-5, или последовательность, по существу идентичную (например, по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичную) ей. В одном варианте осуществления IgG1 человека включает замену в положении 297 в соответствии с нумерацией EU (например, замена Asn на Ala). В одном варианте осуществления IgG1 человека включает замену в положении 265 в соответствии с нумерацией EU, замену в положении 329 в соответствии с нумерацией EU или обе из них (например, замена Asp на Ala в положении 265 и/или замена Pro на Ala в положении 329). В одном варианте осуществления IgG1 человека включает замену в положении 234 в соответствии с нумерацией EU, замену в положении 235 в соответствии с нумерацией EU или обе из них (например, замена Leu на Ala в положении 234 и/или замена Leu на Ala в положении 235).

В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 включает переменный домен и константный домен тяжелой цепи, переменный домен и константную область легкой цепи или и те, и другие, содержащие аминокислотную последовательность АВТІМ3, АВТІМ3-hum01, АВТІМ3-hum02, АВТІМ3-hum03, АВТІМ3-hum04, АВТІМ3-hum05, АВТІМ3-hum06, АВТІМ3-hum07, АВТІМ3-hum08, АВТІМ3-hum09, АВТІМ3-hum10, АВТІМ3-hum11, АВТІМ3-hum12, АВТІМ3-hum13, АВТІМ3-hum14, АВТІМ3-hum15, АВТІМ3-hum16, АВТІМ3-hum17, АВТІМ3-hum18, АВТІМ3-hum19, АВТІМ3-hum20, АВТІМ3-hum21, АВТІМ3-hum22, АВТІМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемые нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) любой из вышеуказанных последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три определяющих комплементарность области (CDR) из переменной области тяжелой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТІМ3, АВТІМ3-hum01, АВТІМ3-hum02, АВТІМ3-hum03, АВТІМ3-hum04, АВТІМ3-hum05, АВТІМ3-hum06, АВТІМ3-hum07, АВТІМ3-hum08, АВТІМ3-hum09, АВТІМ3-hum10, АВТІМ3-hum11, АВТІМ3-hum12, АВТІМ3-hum13, АВТІМ3-hum14, АВТІМ3-hum15, АВТІМ3-hum16, АВТІМ3-hum17, АВТІМ3-hum18, АВТІМ3-hum19, АВТІМ3-hum20, АВТІМ3-hum21, АВТІМ3-hum22, АВТІМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемые нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) любой из вышеуказанных последовательностей.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две или три определяющих комплементарность области (CDR) из переменной области тяжелой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, представленную в табл. 1-4, или кодируемую нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4. В одном варианте осуществления одна или несколько CDR (или в совокупности все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять или более изменений, например аминокислотных замен, инсерций или делеций, относительно аминокислотной последовательности, представленной в табл. 1-4, или кодируемой нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1-4. В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает замену в CDR тяжелой цепи, например одну или несколько замен в CDR1, CDR2 и/или CDR3 тяжелой цепи. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 включает замену в CDR2 тяжелой цепи в положении 55 области тяжелой цепи, например замену аспарагина на серин, или аспарагина на глутамин, в положении 55 области тяжелой цепи согласно табл. 1-4 (например, любая из SEQ ID NO: 1 или 18 для немодифицированной последовательности мыши или гуманизированной последовательности; или любая из SEQ ID NO: 26 или 32 для модифицированной последовательности).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три определяющих комплементарность области (CDR) из переменной области легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТІМ3, АВТІМ3-hum01, АВТІМ3-hum02, АВТІМ3-hum03, АВТІМ3-hum04, АВТІМ3-hum05, АВТІМ3-hum06, АВТІМ3-hum07, АВТІМ3-hum08, АВТІМ3-hum09, АВТІМ3-hum10, АВТІМ3-hum11, АВТІМ3-hum12, АВТІМ3-hum13, АВТІМ3-hum14, АВТІМ3-hum15, АВТІМ3-hum16, АВТІМ3-hum17, АВТІМ3-hum18, АВТІМ3-hum19, АВТІМ3-hum20, АВТІМ3-hum21, АВТІМ3-hum22, АВТІМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4, или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) любой из вышеупомянутых последовательностей.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три CDR (или, в совокупности, все CDR) из вариабельной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, представленную в табл. 1-4 или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1-4. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько CDR (или, в совокупности, все CDR) имеют одно, две, три, четыре, пять, шесть или более изменений, например аминокислотных замен, инсерций или делеций, относительно CDR, показанных в табл. 1-4, или кодируемых нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1-4. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три CDR (или, в совокупности, все CDR) из вариабельной области легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1-4 или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1-4. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько CDR (или, в совокупности, все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или более изменений, например аминокислотных замен, инсерций или делеций, относительно CDR, показанных в табл. 1-4, или кодируемых нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1-4.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR (или, в совокупности, все CDR) из вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащей аминокислотную последовательность, показанную в табл. 1-4 или кодируемую нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1-4. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько CDR (или, в совокупности, все CDR) имеют одно, два, три, четыре, пять, шесть или более изменений, например аминокислотных замен, инсерций или делеций, относительно CDR, показанных в табл. 1-4 или кодируемых нуклеотидной последовательностью, показанной в табл. 1-4.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает все шесть CDR из антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из AVTIM3, AVTIM3-hum01, AVTIM3-hum02, AVTIM3-hum03, AVTIM3-hum04, AVTIM3-hum05, AVTIM3-hum06, AVTIM3-hum07, AVTIM3-hum08, AVTIM3-hum09, AVTIM3-hum10, AVTIM3-hum11, AVTIM3-hum12, AVTIM3-hum13, AVTIM3-hum14, AVTIM3-hum15, AVTIM3-hum16, AVTIM3-hum17, AVTIM3-hum18, AVTIM3-hum19, AVTIM3-hum20, AVTIM3-hum21, AVTIM3-hum22, AVTIM3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4, или высоко сходные CDR, например CDR, которые являются идентичными или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеций или инсерции, например, консервативные замены). В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 может включать любую CDR, описанную в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает замену в CDR тяжелой цепи, например одну или несколько замен в CDR1, CDR2 и/или CDR3 тяжелой цепи. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 включает замену в CDR2 тяжелой цепи в положении 55 области тяжелой цепи, например замену аспарагина на серин или аспарагина на глутамин, в положении 55 области тяжелой цепи согласно табл. 1-4 (например, любая из SEQ ID NO: 1 или 18 для немодифицированной последовательности мши или гуманизированной последовательности; или любая из SEQ ID NO: 26 или 32 для модифицированной последовательности).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три CDR согласно Kabat et al. (например, по меньшей мере одна, две или три CDR согласно определению Kabat, как указано в табл. 1-4) из вариабельной области тяжелой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из AVTIM3, AVTIM3-hum01, AVTIM3-hum02, AVTIM3-hum03, AVTIM3-hum04, AVTIM3-hum05, AVTIM3-hum06, AVTIM3-hum07, AVTIM3-hum08, AVTIM3-hum09, AVTIM3-hum10, AVTIM3-hum11, AVTIM3-hum12, AVTIM3-hum13, AVTIM3-hum14, AVTIM3-hum15, AVTIM3-hum16, AVTIM3-hum17, AVTIM3-hum18, AVTIM3-hum19, AVTIM3-hum20, AVTIM3-hum21, AVTIM3-hum22, AVTIM3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) любой из вышеуказанных последовательностей; или которые обладают по меньшей мере одним аминокислотным изменением, но не более чем двумя, тремя или четырьмя изменениями (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно одной, двух или трех CDR согласно Kabat et al., показанных в табл. 1-4.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три CDR согласно Kabat et al. (например, по меньшей мере одну, две или три CDR согласно определению Kabat, как указано в табл. 1-4) из вариабельной области легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из AVTIM3, AVTIM3-hum01, AVTIM3-hum02, AVTIM3-hum03, AVTIM3-hum04, AVTIM3-hum05, AVTIM3-hum06, AVTIM3-hum07, AVTIM3-hum08, AVTIM3-hum09, AVTIM3-hum10, AVTIM3-hum11, AVTIM3-hum12, AVTIM3-hum13, AVTIM3-hum14, AVTIM3-hum15, AVTIM3-hum16, AVTIM3-hum17, AVTIM3-hum18, AVTIM3-hum19, AVTIM3-hum20, AVTIM3-hum21, AVTIM3-hum22, AVTIM3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательно-

стью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) любой из вышеуказанных последовательностей; или которые обладают по меньшей мере одним аминокислотным изменением, но не более чем двумя, тремя или четырьмя изменениями (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно одной, двух или трех CDR согласно Kabat et al., показанных в табл. 1-4.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR согласно Kabat et al. (например, по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR согласно определению Kabat, как указано в таблицах 1-4) из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в таблицах 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) любой из вышеуказанных последовательностей; или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно одной, двух, трех, четырех, пяти или шести CDR согласно Kabat et al., показанных в табл. 1-4.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает все шесть CDR согласно Kabat et al. (например, все шесть CDR согласно определению Kabat, как указано в табл. 1-4) из переменных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) любой из вышеуказанных последовательностей; или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно всех шести CDR согласно Kabat et al., показанных в табл. 1-4. В одном варианте осуществления молекула антитела против ТИМ-3 может включать любую CDR, описанную в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли согласно Chothia (например, по меньшей мере одна, две или три гипервариабельных петли согласно определению Chothia, как указано в табл. 1-4) из переменной области тяжелой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с ТИМ-3; или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно одной, двух или трех гипервариабельных петель согласно Chothia et al., показанных в табл. 1-4.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли согласно Chothia (например, по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли согласно определению Chothia, как указано в табл. 1-4) переменной области легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с ТИМ-3; или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно одной, двух или трех гипервариабельных петель согласно Chothia et al., показан-

ных в табл. 1-4.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть гипервариабельных петель (например, по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть гипервариабельных петель согласно определению Chothia, как указано в табл. 1-4) из вариабельных областей тяжелой и легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с ТИМ-3; или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно одной, двух, трех, четырех, пяти или шести гипервариабельных петель согласно Chothia et al., показанных в таблицах 1-4.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает все шесть гипервариабельных петель (например, все шесть гипервариабельных петель согласно определению Chothia, как указано в табл. 1-4) антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или высоко сходные гипервариабельные петли, например, гипервариабельные петли, которые являются идентичными или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены); или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно всех шести гипервариабельных петель согласно Chothia et al., показанных в табл. 1-4. В одном варианте осуществления молекула антитела против ТИМ-3 может включать гипервариабельную петлю, описанную в настоящем описании.

В следующем варианте осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли, которые имеют те же канонические структуры, что и соответствующая гипервариабельная петля антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23, например, те же канонические структуры, что и по меньшей мере петля 1 и/или петля 2 вариабельных доменов тяжелой и/или легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании. См., например, Chothia et al., (1992) J. Mol. Biol. 227:799-817; Tomlinson et al., (1992) J. Mol. Biol. 227:776-798 для описаний канонических структур гипервариабельных петель. Эти структуры могут быть определены путем изучения таблиц, описанных в этих ссылках.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает комбинацию CDR или гипервариабельных петель, определенных согласно Kabat et al. и Chothia et al.

В одном варианте осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельных петли из вариабельной области тяжелой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23, согласно определению Kabat и Chothia (например, по меньшей мере одна, две или три CDR или гипервариабельных петли согласно определению Kabat и Chothia, как указано в табл. 1-4); или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентичной) любой из вышеупомянутых последовательностей; или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно одной, двух или трех CDR или гипервариабельных петель согласно Kabat и/или Chothia, показанных в табл. 1-4.

В другом варианте осуществления молекула антитела против ТИМ-3 включает по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельных петли из вариабельной области легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01,

ABTIM3-hum02, ABTIM3-hum03, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum05, ABTIM3-hum06, ABTIM3-hum07, ABTIM3-hum08, ABTIM3-hum09, ABTIM3-hum10, ABTIM3-hum11, ABTIM3-hum12, ABTIM3-hum13, ABTIM3-hum14, ABTIM3-hum15, ABTIM3-hum16, ABTIM3-hum17, ABTIM3-hum18, ABTIM3-hum19, ABTIM3-hum20, ABTIM3-hum21, ABTIM3-hum22, ABTIM3-hum23, согласно определению Kabat и Chothia (например, по меньшей мере одна, две или три CDR или гипервариабельных петли согласно определению Kabat и Chothia, как указано в табл. 1-4); или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или последовательностью, по существу идентичной (например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более высоко идентичной) любой из вышеуказанных последовательностей; или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, делеции или инсерции, например, консервативные замены) относительно одной, двух или трех CDR или гипервариабельных петель согласно Kabat и/или Chothia, показанных в табл. 1-4.

Молекула антитела против TIM-3 может содержать любую комбинацию CDR или гипервариабельных петель согласно определениям Kabat и Chothia.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли Chothia из вариабельной области тяжелой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, представленного в табл. 1-4, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли согласно Chothia из вариабельной области легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, представленного в табл. 1-4, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли согласно Kabat из вариабельной области тяжелой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела согласно табл. 1-4, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли согласно Kabat из вариабельной области легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, представленного в табл. 1-4, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с TIM-3.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть гипервариабельных петель из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, представленного в табл. 1-4, или по меньшей мере аминокислоты из этих вариабельных петель, которые контактируют с TIM-3.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает все шесть гипервариабельных петель из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей антитела, описанного в настоящем описании, например антитела согласно табл. 1-4, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с TIM-3, или по меньшей мере аминокислоты из этих гипервариабельных петель, которые контактируют с TIM-3, или высоко родственных гипервариабельных петель, например гипервариабельных петель, которые идентичны или которые имеют по меньшей мере одно аминокислотное изменение, но не более двух, трех или четырех изменений (например, замены, например, консервативные замены, делеции или инсерции).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает по меньшей мере одну, две или три гипервариабельных петли, которые имеют те же канонические структуры, что и соответствующая гипервариабельная петля антитела, описанного в настоящем описании, например антитела согласно табл. 1-4, например те же канонические структуры, что и по меньшей мере петля 1 и/или петля 2 вариабельных доменов тяжелой и/или легкой цепи антитела, описанного в настоящем описании. См., например, Chothia et al., (1992) *J. Mol. Biol.* 227:799-817; Tomlinson et al., (1992) *J. Mol. Biol.* 227:776-798 для описаний канонических структур гипервариабельных петель. Эти структуры могут быть определены путем изучения таблиц, описанных в этих ссылках. В одном варианте осуществления, например варианте осуществления, включающем вариабельную область, CDR (например, CDR согласно Chothia или CDR согласно Kabat) или другую последовательность, упоминаемую в настоящем описании, например в табл. 1-4, молекула антитела представляет собой моноспецифическую молекулу антитела, биспецифическую молекулу антитела или представляет собой молекулу антитела, которая содержит антигенсвязывающий фрагмент антитела, например половинное антитело или антигенсвязывающий фрагмент половинного антитела. В определенных вариантах осуществления молекула антитела представляет собой биспецифическую молекулу антитела, имеющую первую специфичность связывания в отношении TIM-3 и вторую специфичность связывания в отношении PD-1, LAG-3, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), PD-L1 или PD-L2.

В определенных вариантах осуществления вариабельная каркасная область легкой или тяжелой цепи (например, область, охватывающая по меньшей мере FR1, FR2, FR3 или FR4) молекулы антитела про-

тив ТИМ-3 может быть выбрана из: (а) варибельной каркасной области легкой или тяжелой цепи, включающей по меньшей мере 80%, 85%, 87%, 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% или предпочтительно 100% аминокислотных остатков из варибельной каркасной области легкой или тяжелой цепи, например остатков варибельной каркасной области легкой или тяжелой цепи из зрелого антитела человека, последовательности человека эмбрионального типа или консенсусной последовательности человека; (б) варибельной каркасной области легкой или тяжелой цепи, включающей от 20% до 80%, от 40% до 60%, от 60% до 90% или от 70% до 95% аминокислотных остатков из варибельной каркасной области легкой или тяжелой цепи, например остатков варибельной каркасной области легкой или тяжелой цепи из зрелого антитела человека, последовательности человека эмбрионального типа или консенсусной последовательности человека; (с) не являющейся человеческой каркасной области (например, каркасная область грызуна); или (д) не являющейся человеческой каркасной области, которая была модифицирована, например, для удаления антигенных или цитотоксических детерминант, например деиммунизирована или частично гуманизирована. В некоторых вариантах осуществления варибельная каркасная область легкой или тяжелой цепи включает последовательность варибельной каркасной области легкой или тяжелой цепи, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 87, 88, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98, 99% идентичную каркасным областям сегмента VL или VH гена человека эмбрионального типа.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит варибельный домен тяжелой цепи, имеющий по меньшей мере одно, два, три, четыре, пять, шесть, семь, десять, пятнадцать, двадцать или более изменений, например аминокислотных замен, вставок или делеций в аминокислотной последовательности, например аминокислотной последовательности FR-области всей варибельной области, например, показанной на фиг. 1А. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит варибельный домен тяжелой цепи, имеющий одно или несколько (например, все) из: А в положении 2, Y в положении 3, S в положении 7, R в положении 13, V в положении 37, R в положении 42, V в положении 72, A в положении 79 или F в положении 95, например, аминокислотная последовательность FR всей варибельной области, например, как показано на фиг. 1А. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит варибельный домен тяжелой цепи, имеющий 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 положений, выбранных из: А в положении 2, Y в положении 3, S в положении 7, R в положении 13, V в положении 37, R в положении 42, V в положении 72, A в положении 79 или F в положении 95 аминокислотной последовательности антитела, например, согласно табл. 1-4.

В определенных вариантах осуществления (и необязательно в комбинации с заменами тяжелой цепи, описанными в настоящем описании, например в предыдущем абзаце) молекула антитела против ТИМ-3 содержит варибельный домен легкой цепи, имеющий по меньшей мере одно, два, три, четыре, пять, шесть, семь, десять, пятнадцать, двадцать или более аминокислотных изменений, например аминокислотных замен, инсерций или делеций, в аминокислотной последовательности, представленной в табл. 1-4, например аминокислотной последовательности FR-области всей варибельной области, например, показанной на фиг. 1В. В определенных вариантах осуществления антитело против ТИМ-3 содержит варибельный домен легкой цепи, имеющий M в положении 89 аминокислотной последовательности антитела согласно табл. 1-4.

В некоторых вариантах осуществления варибельный домен тяжелой или легкой цепи или оба из них, молекулы антитела против ТИМ-3 включает аминокислотную последовательность, которая по существу идентична аминокислотной последовательности, описанной в настоящем описании, например, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 95%, 97%, 98%, 99% или более идентична варибельной области антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23; или как описано в табл. 1-4; или кодируемого нуклеотидной последовательностью, представленной в табл. 1-4; или которая отличается по меньшей мере на 1 или 5 остатков, но менее чем на 40, 30, 20 или 10 остатков, от варибельной области антитела, описанного в настоящем описании.

В определенных вариантах осуществления варибельная область тяжелой или легкой цепи, или обе из них, молекулы антитела против ТИМ-3 включает аминокислотную последовательность, кодируемую последовательностью нуклеиновой кислоты, описанной в настоящем описании, или нуклеиновой кислотой, которая гибридизуется с последовательностью нуклеиновой кислоты, описанной в настоящем описании (например, последовательность нуклеиновой кислоты, как показано в табл. 1-4), или комплементарной ей последовательностью, например, в условиях низкой жесткости, умеренной жесткости или высокой жесткости или в других условиях гибридизации, описанных в настоящем описании.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит по меньшей мере одну, две, три или четыре антигенсвязывающих области, например варибельных области, имеющих аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу идентичную ей (например, последовательность по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%,

99% или более идентичную ей или отличающуюся не более чем на 1, 2, 5, 10 или 15 аминокислотных остатков от последовательностей, представленных в табл. 1-4). В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 включает домен VH и/или VL, кодируемый нуклеиновой кислотой, имеющей нуклеотидную последовательность, которая кодирует антитело, представленное в табл. 1-4, или последовательность, по существу идентичную любой из нуклеотидных последовательностей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей или отличающуюся не более чем на 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от последовательностей, представленных в табл. 1-4).

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две или три (например, все) CDR из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замен, инсерций или делеций, например, консервативных замен). В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две или три (например, все) CDR из вариабельной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замен, инсерций или делеций, например, консервативных замен). В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть (например, все) CDR из вариабельных областей тяжелой и легкой цепи, имеющих аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замен, инсерций или делеций, например, консервативных замен).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две или три (например, все) CDR и/или гипервариабельных петли из вариабельной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТІМ3-hum01, АВТІМ3-hum02, АВТІМ3-hum03, АВТІМ3-hum04, АВТІМ3-hum05, АВТІМ3-hum06, АВТІМ3-hum07, АВТІМ3-hum08, АВТІМ3-hum09, АВТІМ3-hum10, АВТІМ3-hum11, АВТІМ3-hum12, АВТІМ3-hum13, АВТІМ3-hum14, АВТІМ3-hum15, АВТІМ3-hum16, АВТІМ3-hum17, АВТІМ3-hum18, АВТІМ3-hum19, АВТІМ3-hum20, АВТІМ3-hum21, АВТІМ3-hum22, АВТІМ3-hum23, как обобщенно представлено в табл. 1-4, или последовательность, по существу идентичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замен, инсерций или делеций, например, консервативных замен). В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит по меньшей мере одну, две или три (например, все) CDR и/или гипервариабельных петель из вариабельной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность антитела, описанного в настоящем описании, например антитела, выбранного из любого из АВТІМ3-hum01, АВТІМ3-hum02, АВТІМ3-hum03, АВТІМ3-hum04, АВТІМ3-hum05, АВТІМ3-hum06, АВТІМ3-hum07, АВТІМ3-hum08, АВТІМ3-hum09, АВТІМ3-hum10, АВТІМ3-hum11, АВТІМ3-hum12, АВТІМ3-hum13, АВТІМ3-hum14, АВТІМ3-hum15, АВТІМ3-hum16, АВТІМ3-hum17, АВТІМ3-hum18, АВТІМ3-hum19, АВТІМ3-hum20, АВТІМ3-hum21, АВТІМ3-hum22, АВТІМ3-hum23, как обобщенно представлено в табл. 1-4, или последовательность, по существу идентичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замен, инсерций или делеций, например, консервативных замен). В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит все шесть CDR и/или гипервариабельных петель, описанных в настоящем описании, например описанных в табл. 1-4.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела имеет вариабельную область, которая является идентичной по последовательности или которая отличается на 1, 2, 3 или 4 аминокислоты от вариабельной области, описанной в настоящем описании (например, FR-область, описанная в настоящем описании).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 представляет собой полноразмерное антитело или его фрагмент (например, Fab, F(ab')₂, Fv или одноцепочечный Fv-фрагмент (scFv)). В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 представляет собой моноклональное антитело или антитело с одной специфичностью. Молекула антитела против TIM-3 также может представлять собой гуманизированную, химерную молекулу антитела, молекулу антитела животных семейства верблюжьих, молекулу антитела акулы или полученную *in vitro* молекулу антитела. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 представляет собой гуманизированную молекулу антитела. Тяжелые и легкие цепи молекулы антитела против TIM-3 могут быть полноразмерными (например, антитело может включать по меньшей мере одну или по меньшей мере две полных тяжелых цепи и по меньшей мере одну или по меньшей мере две полных легких цепи) или могут включать антигенсвязывающий фрагмент (например, Fab, F(ab')₂, Fv, одноцепочечный Fv-фрагмент, од-

нодоменное антитело, диантитело (dAb), двухвалентное или биспецифическое антитело или его фрагмент, их однодоменный вариант или антитело животных семейства верблюжьих).

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 имеет форму биспецифической или полиспецифической молекулы антитела. В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела имеет первую специфичность связывания в отношении ТИМ-3 и вторую специфичность связывания, например вторую специфичность связывания в отношении PD-1, LAG-3, CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5), PD-L1 или PD-L2. В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела связывается с ТИМ-3 и PD-1. В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела связывается с ТИМ-3 и LAG-3. В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела связывается с ТИМ-3 и CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5). В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела связывается с ТИМ-3 и CEACAM-1. В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела связывается с ТИМ-3 и CEACAM-3. В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела связывается с ТИМ-3 и CEACAM-5. В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела связывается с ТИМ-3 и PD-L1. В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела связывается с ТИМ-3 и PD-L2. Любую комбинацию вышеупомянутых молекул можно преобразовывать в молекулу полиспецифического антитела, например триспецифическое антитело, которое включает первую специфичность связывания в отношении ТИМ-3 и вторую и третью специфичности связывания в отношении одного или нескольких из: PD-1, LAG-3, CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5), PD-L1 или PD-L2.

В других вариантах осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с биспецифической молекулой, содержащей одно или несколько из: PD-1, LAG-3, CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5), PD-L1 или PD-L2. В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела, используемая в комбинации, связывается с CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5) и LAG-3. В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела, используемая в комбинации, связывается с CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5) и PD-1. В другом варианте осуществления биспецифическая молекула антитела, используемая в комбинации, связывается с LAG-3 и PD-1.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 имеет константную область тяжелой цепи (Fc), выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE; в частности, выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3, и IgG4, более конкретно, константной области тяжелой цепи IgG1 или IgG2 (например, IgG1 или IgG2 человека). В некоторых вариантах осуществления константная область тяжелой цепи представляет собой IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 имеет константную область легкой цепи, выбранную, например, из константных областей легкой цепи каппа или лямбда, в некоторых вариантах осуществления каппа (например, каппа человека). В некоторых вариантах осуществления константная область является измененной, например, посредством мутации для модификации свойств молекулы антитела против ТИМ-3 (например, для повышения или снижения одного или нескольких из: связывания Fc-рецептора, гликозилирования антитела, количества остатков цистеина, эффекторной клеточной функции или функции комплемента). Например, в константную область может быть внесена мутация в положениях 296 (M на Y), 298 (S на T), 300 (T на E), 477 (H на K) и 478 (N на F) для изменения связывания Fc-рецептора (например, мутантные положения соответствуют положениям 132 (M на Y), 134 (S на T), 136 (T на E), 313 (H на K) и 314 (N на F) SEQ ID NO: 108 или 110; или положениям 135 (M на Y), 137 (S на T), 139 (T на E), 316 (H на K) и 317 (N на F) SEQ ID NO: 111, 112, 113 или 114). В другом варианте осуществления в константную область тяжелой цепи IgG4, например IgG4 человека, внесена мутация в положении 228 в соответствии с нумерацией EU (например, S на P), например, как показано в табл. 5. В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит IgG4 человека, в который внесена мутация в положении 228 в соответствии с нумерацией EU (например, S на P), например, как показано в табл. 5; и константную область легкой цепи каппа, например, как показано в табл. 5. В следующем варианте осуществления в константную область тяжелой цепи IgG1, например IgG1 человека, внесена мутация в одном или нескольких из положения 297 (например, N на A), положения 265 (например, D на A), положения 329 (например, P на A), положения 234 (например, L на A) или положения 235 (например, L на A), все в соответствии с нумерацией EU, например, как показано в табл. 5. В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 содержит IgG1 человека, в который внесена мутация в одном или нескольких из вышеуказанных положений, например, как показано в табл. 5; и константную область легкой цепи каппа, например, как показано в табл. 5. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 представляет собой гуманизованную молекулу антитела.

В некоторых вариантах осуществления молекулы антител против ТИМ-3 содержат комбинации карманных областей человека или гуманизованных карманных областей с CDR (определяющие комплементарность области).

Также изобретение относится к молекуле антитела, которая конкурирует с моноклональным антителом, например молекулой антитела, описанной в настоящем описании, за связывание с ТИМ-3 человека.

В определенных вариантах осуществления моноклональное антитело содержит:

аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 30 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8.

Также изобретение относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которая содержит одну или обе нуклеотидных последовательности, которые кодируют переменные области тяжелой и легкой цепей, CDR, гипервариабельные петли, каркасные области молекул антител против ТИМ-3, как описано в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления нуклеотидная последовательность, которая кодирует молекулу антитела против ТИМ-3, является кодон-оптимизированной. Например, изобретение относится к первой и второй нуклеиновой кислоте, кодирующей переменные области тяжелой и легкой цепей, соответственно, молекулы антитела против ТИМ-3, выбранной из одного или нескольких, например любого из АВТИМ3, АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22, АВТИМ3-hum23, как обобщенно представлено в табл. 1-4, или последовательности, по существу идентичной им. Например, нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу идентичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей или отличающуюся не более чем на 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от последовательностей, показанных в табл. 1-4).

В некоторых вариантах осуществления описаны нуклеиновые кислоты, содержащие нуклеотидные последовательности, которые кодируют переменные области тяжелой и легкой цепи и CDR молекул антител против ТИМ-3, как описано в настоящем описании. Например, изобретение относится к первой и второй нуклеиновой кислоте, кодирующей переменные области тяжелой и легкой цепей, соответственно, молекулы антитела против ТИМ-3 согласно табл. 1-4 или последовательность, по существу идентичную ей. Например, нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу антитела против ТИМ-3 согласно табл. 1-4, или последовательность, по существу идентичную этой нуклеотидной последовательности (например, последовательность по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей или отличающуюся не более чем на 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от вышеупомянутой нуклеотидной последовательности).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельных петли из переменной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную и/или имеющую одну, две, три или более замен, инсерций или делеций, например, консервативных замен).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR или гипервариабельных петли из переменной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замен, инсерций или делеций, например, консервативных замен).

В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR или гипервариабельных петель из переменных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну, две, три или более замен, инсерций или делеций, например, консервативных замен).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 является выделенной или рекомбинантной.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к клеткам-хозяевам и векторам, содержащим нуклеиновые кислоты, описанные в настоящем описании. Нуклеиновые кислоты могут находиться в одном векторе или в отдельных векторах в одной клетке-хозяине или в различных клетках-хозяевах. Клетка-хозяин может представлять собой эукариотическую клетку, например клетку млекопитающих, клетку дрожжей или прокариотическую клетку, например *E.coli*. Например, клетка млекопитающих может представлять собой культивируемую клетку или клеточную линию. Иллюстративные клетки млекопитающих включают лимфоцитарные клеточные линии (например, NS0), клетки яичника китайского хомяка (CHO), клетки COS, ооциты и клетки из трансгенного животного, например эпителиальные клетки молочной железы.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способу предоставления молекулы анти-

тела, описанной в настоящем описании. Способ может включать: предоставление антигена ТИМ-3 (например, антиген, содержащий по меньшей мере часть эпитопа ТИМ-3, например, домен IgV ТИМ-3); получение молекулы антитела, которая специфически связывается с антигеном ТИМ-3; и оценку того, связывается ли молекула антитела специфически с антигеном ТИМ-3, или оценку эффективности молекулы антитела в отношении модулирования, например, стимуляции или ингибирования, активности ТИМ-3. Кроме того, способ может включать введение молекулы антитела индивидууму, например человеку или не являющемуся человеком животному.

В некоторых аспектах изобретение относится к композициям, например фармацевтическим композициям, которые включают фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент или стабилизатор, и по меньшей мере одну из молекул антител против ТИМ-3, описанных в настоящем описании. В одном варианте осуществления композиция, например фармацевтическая композиция, включает комбинацию молекулы антитела и одного или нескольких средств, например лекарственного средства или другой молекулы антитела, как описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела конъюгирована с меткой или лекарственным средством. В некоторых вариантах осуществления композиции, например фармацевтические композиции, содержат комбинацию молекулы антитела и второго средства, например лекарственного средства, или две или более из вышеупомянутых молекул антител, как дополнительно описано в настоящем описании.

Молекулы антител против ТИМ-3, описанные в настоящем описании, могут ингибировать, снижать или нейтрализовывать один или несколько видов активности ТИМ-3, например, что приводит к блокаде или снижению иммунного контроля Т-клеток или НК-клеток или возобновлению иммунного ответа путем модулирования антигенпредставляющих клеток. В одном варианте осуществления молекула антитела приводит к одному или нескольким из: усиления секреции IFN-гамма и/или TNF-альфа в Т-клетках; усиления пролиферации Т-клеток, например CD4+ или CD8+ Т-клеток; усиления цитотоксической активности НК-клеток или уменьшения супрессорной активности регуляторных Т-клеток (Трег) или макрофагов; или увеличения способности макрофагов или дендритных клеток стимулировать иммунный ответ. Таким образом, такие молекулы антител можно использовать для лечения или предупреждения нарушений, при которых является желательным усиление иммунного ответа у индивидуума.

Применение молекул антител против ТИМ-3

Молекулы антител, описанные в настоящем описании, могут модулировать (например, усиливать, стимулировать, увеличивать, ингибировать, снижать или нейтрализовывать) один или несколько видов активности ТИМ-3. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела приводит к одному или нескольким из: усиления секреции IFN-гамма и/или пролиферации Т-клеток или усиления цитотоксической активности НК-клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 увеличивает секрецию IFN-гамма по меньшей мере на 16%, 18%, 20%, 22%, 24%, 26%, 28% или 30%, например, в анализе согласно примеру 4. В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 повышает цитотоксическую активность НК-клеток по меньшей мере приблизительно на 10%, 20%, 30%, 40%, 60%, 80% или 100%, например, в анализе согласно примеру 5. Например, молекула антитела против ТИМ-3 может увеличивать цитотоксическую активность НК-клеток до по меньшей мере приблизительно 60% или 70% убитых клеток-мишеней, когда $E/T=5$, до по меньшей мере приблизительно 75% или 85% убитых клеток-мишеней, когда $E/T=12$, или до по меньшей мере приблизительно 85% или 95% убитых клеток-мишеней, когда $E/T=25$, например, в анализе согласно примеру 5.

В некоторых аспектах предусматривается способ модулирования (например, стимуляции или ингибирования) иммунного ответа у индивидуума. Способ включает введение индивидууму молекулы антитела против ТИМ-3, описанной в настоящем описании (например, терапевтически эффективное количество молекулы антитела против ТИМ-3), отдельно или в комбинации с одним или несколькими средствами или процедурами, например в комбинации с другими иммуномодулирующими средствами), так чтобы происходило модулирование иммунного ответа у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела усиливает, стимулирует или повышает иммунный ответ у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела ингибирует, снижает или нейтрализует иммунный ответ у индивидуума.

Индивидуум может представлять собой млекопитающее, например обезьяну, примата, предпочтительно высшего примата, например человека (например, пациент, имеющий нарушение или имеющий риск наличия нарушения, описанного в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления индивидуум нуждается в усилении иммунного ответа и в некоторых вариантах осуществления индивидуум нуждается в ингибировании иммунного ответа. В одном варианте осуществления индивидуум имеет нарушение или имеет риск нарушения, описанного в настоящем описании, например, злокачественной опухоли или инфекционного нарушения, как описано в настоящем описании. В определенных вариантах осуществления индивидуум имеет иммунодефицит или имеет риск иммунодефицита. Например, индивидуум подвергается или подвергался химиотерапевтическому лечению и/или лучевой терапии. Альтернативно или в комбинации, индивидуум имеет иммунодефицит или имеет риск иммунодефицита в результате инфекции.

В одном аспекте предусматривается способ лечения (например, одно или несколько из снижения,

ингибирования или замедления прогрессирования) злокачественной опухоли или новообразования у индивидуума. Способ включает введение индивидууму молекулы антитела против TIM-3, описанной в настоящем описании, например терапевтически эффективного количества молекулы антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с одним или несколькими средствами или процедурами. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с модулятором костимулирующей молекулы (например, агонист костимулирующей молекулы) или модулятором ингибиторной молекулы (например, ингибитор контрольной точки иммунного ответа), например, как описано в настоящем описании.

Также настоящее изобретение относится к способу снижения или ингибирования роста клеток злокачественной опухоли или новообразования (например, лечение злокачественной опухоли) у индивидуума, включающий введение индивидууму молекулы антитела против TIM-3, описанной в настоящем описании, например терапевтически эффективного количества молекулы антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с вторым средством, например иммуномодулятором (например, ингибитор PD-1, PD-L1, LAG-3 или CEACAM-1 (например, антитело) или из комбинация).

В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль, подвергаемая лечению молекулой антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами, включает, но не ограничивается ими, солидную опухоль, гематологическую злокачественную опухоль (например, лейкоз, лимфома, миелома, например множественная миелома) и метастатический очаг повреждения. В одном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль. Примеры солидных опухолей включают злокачественные опухоли, например саркомы и карциномы, например аденокарциномы различных систем органов, таких как легкое, молочная железа, яичник, лимфоидные органы, желудочно-кишечный тракт (например, толстый кишечник), анальный канал, половые органы и мочеполовой тракт (например, почки, уретерий, клетки мочевого пузыря, предстательная железа), глотка, ЦНС (например, клетки головного мозга, нейрональные или глиальные клетки), голова и шея, кожа (например, меланома) и поджелудочная железа, а также аденокарциномы, которые включают злокачественные опухоли, такие как рак толстого кишечника, рак прямой кишки, почечно-клеточная карцинома, рак печени, немелкоклеточный рак легкого, рак тонкого кишечника и рак пищевода. Злокачественная может представлять собой злокачественную опухоль на ранней, промежуточной, поздней стадии или метастазирующую злокачественную опухоль.

В одном варианте осуществления злокачественная опухоль выбрана из рака легкого (например, аденокарцинома легкого или немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) (например, NSCLC с плоскоклеточной и/или неплоскоклеточной гистологией, или аденокарцинома NSCLC)), меланомы (например, развернутая меланома), рака почки (например, почечноклеточный рак), рака печени (например, печеночно-клеточная карцинома), миеломы (например, множественная миелома), рака предстательной железы, рака молочной железы (например, рак молочной железы, который не экспрессирует один, два или все из рецептора эстрогена, рецептора прогестерона или Her2/neu, например, тройной негативный рак молочной железы), рака яичника, рака ободочной и прямой кишки, рака поджелудочной железы, рака головы и шеи (например, плоскоклеточная карцинома головы и шеи (HNSCC), рака анального канала, рака желудка и пищевода (например, плоскоклеточная карцинома пищевода), мезотелиомы, рака носоглотки, рака щитовидной железы, рака шейки матки, лимфопролиферативного заболевания (например, посттрансплантационное лимфопролиферативное заболевание) или гематологической злокачественной опухоли (например, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, Т-клеточная лимфома, В-клеточная лимфома или неходжкинская лимфома) или лейкоза (например, миелоидный лейкоз или лимфидный лейкоз).

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль выбрана из карциномы (например, развернутая или метастазирующая карцинома), меланомы или карциномы легкого, например немелкоклеточная карцинома легкого.

В одном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак легкого, например аденокарциному легкого, немелкоклеточный рак легкого или мелкоклеточный рак легкого.

В одном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой меланому, например развернутую меланому. В одном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой развернутую или нерезектабельную меланому, которая не отвечает на другие способы терапии. В других вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой меланому с мутацией BRAF (например, мутация V600 BRAF). В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят после лечения антителом против CTLA-4 (например, ипилимумаб) с ингибитором BRAF (например, вемурафениб или дабрафениб) или без него.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой карциному печени, например развернутую карциному печени с вирусной инфекцией или без нее, например хроническим вирусным гепатитом.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак предстательной железы, например развернутый рак предстательной железы.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой миелому, например множественную миелому.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак почки, например почечноклеточный рак (RCC) (например, метастазирующий RCC, светлоклеточный почечноклеточный рак (CCRCC) или карцинома папиллярных клеток почки).

В одном варианте осуществления микроокружение опухоли имеет повышенный уровень экспрессии PD-L1. Альтернативно или в комбинации, микроокружение опухоли имеет увеличенную экспрессию IFN γ и/или CD8.

В некоторых вариантах осуществления индивидум имеет или идентифицирован как имеющий опухоль, которая имеет одно или несколько из высокого уровня или экспрессии PD-L1, или как имеющий инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL)+ (например, как имеющий увеличенное количество TIL), или оба из них. В определенных вариантах осуществления индивидум имеет или идентифицирован как имеющий опухоль, которая имеет высокий уровень или экспрессию PD-L1 и которая является TIL+. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, кроме того, включают идентификацию индивидума, как имеющего опухоль, которая имеет одно или несколько из высокого уровня или экспрессии PD-L1, или как являющегося TIL+, или оба из них. В определенных вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, кроме того, включают идентификацию индивидума, как имеющего опухоль, которая имеет высокий уровень или экспрессию PD-L1, и как являющегося TIL+. В некоторых вариантах осуществления опухоли, которые являются TIL+, являются положительными по CD8 и IFN γ . В некоторых вариантах осуществления индивидум имеет или идентифицирован как имеющий высокий процент клеток, которые являются положительными по одному, двум или более из PD-L1, CD8 и/или IFN γ . В определенных вариантах осуществления индивидум имеет или идентифицирован как имеющий высокий процент клеток, которые являются положительными по всем из PD-L1, CD8 и IFN γ .

В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, кроме того, включают идентификацию индивидума, исходя из наличия высокого процента клеток, которые являются положительными по одному, двум или более из PD-L1, CD8 и/или IFN γ . В определенных вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, кроме того, включают идентификацию индивидума, исходя из наличия высокого процента клеток, которые являются положительными по всем из PD-L1, CD8 и IFN γ . В некоторых вариантах осуществления индивидум имеет или идентифицирован как имеющий один, два или более из PD-L1, CD8 и/или IFN γ и один или несколько из рака легкого, например плоскоклеточного рака легкого или аденокарциномы легкого; рака головы и шеи; плоскоклеточного рака шейки матки; рака желудка; рака пищевода; рака щитовидной железы; меланомы и/или рака ротоглотки (NPC). В определенных вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, далее включают идентификацию индивидума, исходя из наличия одного, двух или нескольких из PD-L1, CD8 и/или IFN γ и одного или нескольких из рака легкого, например плоскоклеточного рака легкого или аденокарциномы легкого; рака головы и шеи; плоскоклеточного рака шейки матки; рака желудка; рака щитовидной железы; меланомы и/или рака носоглотки.

В некоторых вариантах осуществления индивидум имеет или идентифицирован как имеющий опухоль, которая имеет одно, два или несколько из высокого уровня или экспрессии PD-1, высокого уровня или экспрессии TIM-3 и/или высокого уровня инфильтрации регуляторных T-клеток в опухоль, например, увеличенное количество или процент Treg, присутствующих в опухоли. В определенных вариантах осуществления индивидум имеет или идентифицирован как имеющий опухоль, которая имеет высокий уровень или экспрессию PD-1 и TIM-3 и высокий уровень, например, количество, регуляторных T-клеток в опухоли. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, кроме того, включают идентификацию индивидума, исходя из одного, двух или более из высокого процента клеток, которые являются положительными по PD-1, высокого процента клеток, которые являются положительными по TIM-3, и/или высокого уровня инфильтрации регуляторных T-клеток в опухоли, например увеличенного количества или процента Treg, присутствующих в опухоли. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, кроме того, включают идентификацию индивидума, исходя из одного, двух или более из высокого процента клеток, которые являются положительными по PD-1, высокого процента клеток, которые являются положительными по TIM-3, и/или высокого уровня инфильтрации регуляторных T-клеток в опухоль, например, увеличенного количества или процента Treg, присутствующих в опухоли, и одного или нескольких из рака легкого, например немелкоклеточного рака легкого (NSCLC); печеночноклеточного рака, например печеночно-клеточной карциномы; или рака яичника, например карциномы яичника.

Способы и композиции, описанные в настоящем описании, являются пригодными для лечения метастатических очагов, ассоциированных с вышеупомянутыми злокачественными опухолями.

В следующих аспектах настоящее изобретение относится к способу лечения инфекционного заболевания у индивидума, включающего введение индивидуму терапевтически эффективного количества антитела против TIM-3, описанного в настоящем описании, или его антигенсвязывающей части, отдельно или в комбинации с одним или несколькими средствами или методиками (например, одно или несколько иммуномодулирующих средств).

Кроме того, настоящее изобретение относится к способам усиления иммунного ответа на антиген у индивидуума, включающим введение индивидууму: (i) антигена; и (ii) антитела против TIM-3 или его антигенсвязывающей части, так чтобы иммунный ответ на антиген у индивидуума усиливался. Антиген может представлять собой, например, опухолевый антиген, вирусный антиген, бактериальный антиген или антиген из патогена.

Молекулу антитела против TIM-3 можно вводить индивидууму системно (например, перорально, парентерально, подкожно, внутривенно, ректально, внутримышечно, внутривисцерально, интраназально, чрескожным путем или посредством ингаляции или внутривисцеральной установки), местно или путем нанесения на слизистые оболочки, такие как слизистые оболочки носа, глотки и бронхиальных трубок.

Молекулу антитела против TIM-3 можно использовать отдельно в неконъюгированной форме, или ее можно связывать с веществом, например цитотоксическим средством или частью (например, терапевтическое средство); соединение, испускающее радиационное излучение; молекулы растительного, грибного или бактериального происхождения; или биологический белок (например, белковый токсин) или частица (например, рекомбинантная вирусная частица, например, через вирусный белок оболочки). Например, антитело против TIM-3 можно связывать с радиоактивным изотопом, таким как α -, β - или γ -излучатель или β - и γ -излучатель.

Дозировки и терапевтические режимы молекулы антитела против TIM-3 могут быть определены квалифицированным специалистом. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят посредством инъекции (например, подкожно или внутривенно) в дозе приблизительно от 1 до 30 мг/кг, например приблизительно от 5 до 25 мг/кг, приблизительно от 10 до 20 мг/кг, приблизительно от 1 до 5 мг/кг или приблизительно 3 мг/кг. Схема дозирования может варьироваться, например, от одного раза в неделю до одного раза в 2, 3 или 4 недели. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в дозе приблизительно от 10 до 20 мг/кг раз в две недели.

Молекулы антител, описанные в настоящем описании, являются предпочтительными для применения в способах, описанных в настоящем описании, хотя можно использовать другие антитела против TIM-3 вместо или в комбинации с молекулой антитела против TIM-3 по изобретению.

Комбинированная терапия

Способы и композиции, описанные в настоящем описании, можно использовать в комбинации с другими способами терапии. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, включают введение индивидууму молекулы антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, в комбинации с цитотоксическим средством в количестве, эффективном для лечения или предупреждения указанного нарушения. Молекулу антитела и цитотоксическое средство можно вводить одновременно или последовательно.

Можно использовать любую комбинацию и последовательность молекул антител против TIM-3 и других способов лечения. Молекула антитела против TIM-3 и/или другое терапевтическое средство можно вводить в периоды активного нарушения или в период ремиссии или менее активного заболевания. Молекулу антитела против TIM-3 и другое терапевтическое средство можно вводить до лечения, одновременно с лечением, после лечения или в ходе ремиссии нарушения.

В определенных вариантах осуществления способы и композиции, описанные в настоящем описании, вводят в комбинации с одним или несколькими другими молекулами антитела, химиотерапией, другим средством против злокачественной опухоли (например, направленная терапия против злокачественной опухоли, генная терапия, вирусная терапия, РНК-терапия, трансплантация костного мозга, нанотерапия или онколитические лекарственные средства), цитотоксическими средствами, иммунной терапией (например, цитокины или клеточная иммунная терапия), хирургическими процедурами (например, лампэктомию или мастэктомию) или радиационными процедурами, или комбинацией любых из вышеуказанных. Дополнительная терапия может быть в форме адьювантной или неоадьювантной терапии. В некоторых вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой ферментативный ингибитор (например, низкомолекулярный ферментативный ингибитор) или метастатический ингибитор. Иллюстративные цитотоксические средства, которые можно вводить в комбинации, включают антимикротубулиновые средства, ингибиторы топоизомераз, антиметаболиты, ингибиторы митоза, алкилирующие средства, антрациклины, алкалоиды барвинка, интеркалирующие средства, средства, способные препятствовать каскаду передачи сигнала, средства, которые стимулируют апоптоз, ингибиторы протеасом и лучевую терапию (например, локальное облучение или облучение всего организма (например, облучение гамма-излучением)). В других вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой хирургическую операцию, или лучевую терапию, или их комбинацию. В других вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой терапию, нацеленную на один или несколько из каскадов PI3K/AKT/mTOR, ингибитор HSP90 или ингибитор тубулина.

Альтернативно или в комбинации с вышеуказанными комбинациями, проведение способов и введение композиций, описанных в настоящем описании, можно осуществлять в комбинации с одним или несколькими из: иммуномодуляторов (например, активатор костимулирующей молекулы или ингибитор ингибиторной молекулы, например, молекулы контрольной точки иммунного ответа); вакцины, напри-

мер, терапевтической вакцины против злокачественной опухоли; или других форм клеточной иммунотерапии.

Иллюстративные неограничивающие комбинации и применения молекул антител против TIM-3 включают следующие.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с модулятором костимулирующей молекулы или ингибиторной молекулы, например коингибирующего лиганда или рецептора.

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с модулятором, например агонистом, костимулирующей молекулы. В одном варианте осуществления агонист костимулирующей молекулы выбран из агониста (например, антитело-агонист или его антигенсвязывающий фрагмент или растворимая слитая конструкция) OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 или лиганда CD83.

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором ингибиторной молекулы (или ингибитором контрольной точки иммунного ответа), выбранной из PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, CEACAM (например, CEACAM-1, -3 и/или -5), VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 и/или TGF β . Ингибирование ингибиторной молекулы может быть осуществлено посредством ингибирования на уровне ДНК, РНК или белка. В вариантах осуществления ингибиторную нуклеиновую кислоту (например, дцРНК, миРНК или кшРНК) можно использовать для ингибирования экспрессии ингибиторной молекулы. В других вариантах осуществления ингибитор ингибиторного сигнала представляет собой полипептид, например растворимый лиганд, или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с ингибиторной молекулой. В одном варианте осуществления ингибитор представляет собой растворимый лиганд (например, CTLA-4-Ig), или антитело, или фрагмент антитела, которые связываются с PD-L1, PD-L2 или CTLA-4. Например, молекулу антитела против TIM-3 можно вводить в комбинации с антителом против CTLA-4, например ипилимумабом, например, для лечения злокачественной опухоли (например, злокачественная опухоль, выбранная из: меланомы, например метастазирующей меланомы; рака легкого, например немелкоклеточной карциномы легких; или рака предстательной железы). В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят после лечения антителом против CTLA-4 (например, ипилимумабом) с ингибитором BRAF (например, вемурафениб или дабрафениб) или без него.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с антителом против TIM-3 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с антителом против PD-1 или его антигенсвязывающим фрагментом.

В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с антителом против TIM-3 и антителом против TIM-3 (или его антигенсвязывающими фрагментами).

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором CEACAM (например, ингибитор CEACAM-1, -3 и/или -5), например молекулой антитела против CEACAM. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором CEACAM-1, например молекулой антитела против CEACAM-1. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором CEACAM-3, например молекулой антитела против CEACAM-3. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором CEACAM-5, например молекулой антитела против CEACAM-5.

Комбинацию антител, описанных в настоящем описании, можно вводить отдельно, например в качестве отдельных антител или их антигенсвязывающих фрагментов, или в связанном состоянии, например в качестве биспецифической или триспецифической молекулы антитела. В одном варианте осуществления вводят биспецифическое антитело, которое включает молекулу антитела против TIM-3 и антитело против PD-1, против CEACAM (например, против CEACAM-1, -3 и/или -5) или против TIM-3, или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенных вариантах осуществления комбинацию антител, описанных в настоящем описании, используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, солидная опухоль или гематологическая злокачественная опухоль).

В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с цитокином. Цитокин можно вводить в качестве слитой молекулы с молекулой антитела против TIM-3 или в качестве отдельных композиций. В одном варианте осуществления антитело против TIM-3 вводят в комбинации с одним, двумя, тремя или более цитокинами, например, в качестве слитой молекулы или в качестве отдельных композиций. В одном варианте осуществления цитокин представляет собой интерлейкин (IL), выбранный из одного, двух, трех или более из IL-1, IL-2, IL-12, IL-15 или IL-21. В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела имеет первую специфичность связывания в отношении первой мишени (например, с TIM-3), вторую специфичность связывания в отношении второй мишени (например, LAG-3 или PD-1) и необязательно связана с доменом интерлейкина (например, IL-

12), например, полноразмерным IL-12 или его частью. В определенных вариантах осуществления комбинацию молекулы антитела против TIM-3 и цитокина, описанного в настоящем описании, используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, солидная опухоль).

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с антителом, специфичным к HLA C, например антителом, специфичным к иммуноглобулин-подобным рецепторам киллерных клеток (также обозначаемым как "антитело против KIR"). В определенных вариантах осуществления комбинацию молекулы антитела против TIM-3 и антитела против KIR используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, солидная опухоль, например развернутая солидная опухоль).

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с клеточной иммунотерапией (например, Provenge® (например, Sipuleucel-T)) и необязательно в комбинации с циклофосфамидом. В определенных вариантах осуществления комбинацию молекулы антитела против TIM-3, Provenge® и/или циклофосфамида используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, рак предстательной железы, например развернутый рак предстательной железы).

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с вакциной, например вакциной против злокачественной опухоли (например, вакцина на основе дендритных клеток против карциномы почки (DC-RCC)). В одном варианте осуществления вакцина является основанной на пептиде, основанной на ДНК, основанной на РНК или основанной на антигене или их комбинацией. В вариантах осуществления вакцина содержит один или несколько пептидов, нуклеиновых кислот (например, ДНК или РНК), антигенов или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления комбинацию молекулы антитела против TIM-3 и вакцины DC-RCC используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, карцинома почки, например метастазирующий почечноклеточный рак (RCC) или светлоклеточный почечноклеточный рак (CCRCC)).

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с адьювантом.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с химиотерапией и/или иммунотерапией. Например, молекулу антитела против TIM-3 можно использовать для лечения миеломы, отдельно или в комбинации с одним или несколькими из: химиотерапевтических или других средств против злокачественной опухоли (например, аналоги талидомида, например леналидомид), антитела против PD-1, обработанных опухолевым антигеном дендритных клеток, слитых (например, посредством электрослияния) опухолевых клеток и дендритных клеток, или вакцинации идиотипом иммуноглобулина, продуцируемым злокачественными плазмацитами. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с антителом против TIM-3 для лечения миеломы, например множественной миеломы.

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с химиотерапией для лечения рака легкого, например немелкоклеточного рака легкого. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют со стандартной химиотерапией против рака легкого, например NSCLC, например, терапией платиновыми дублетами, для лечения рака легкого. В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с ингибитором индоламин-пиррол-2,3-диоксигеназы (IDO) (например, INCB24360) у индивидуума с развернутой или метастатической злокачественной опухолью (например, пациент с метастатической и рецидивирующей злокачественной опухолью NSCLC).

В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с одним или несколькими из: стратегии на иммунной основе (например, интерлейкин-2 или интерферон- α), нацеливающего средства (например, ингибитор VEGF, такой как моноклональное антитело к VEGF); ингибитора тирозинкиназы VEGF, такого как сунитиниб, сорафениб, акситиниб и пазопаниб; ингибитора РНК-и; или ингибитора нижерасположенного медиатора передачи сигнала VEGF, например ингибитора мишени рапамицина (mTOR) у млекопитающих, например эверолимуса и темсиролимуса. Любую из таких комбинаций можно использовать для лечения рака почки, например почечноклеточного рака (RCC) (например, светлоклеточного почечноклеточного рака (CCRCC)) или метастазирующего RCC.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, описанную в настоящем описании, используют в комбинации с ингибитором MEK (например, ингибитор MEK, как описано в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления комбинацию антитела против TIM-3 и ингибитора MEK используют для лечения злокачественной опухоли (например, злокачественной опухоли, описанной в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль, которую лечат комбинацией, выбрана из меланомы, рака ободочной и прямой кишки, немелкоклеточного рака легкого, рака яичника, рака молочной железы, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, гематологической злокачественной опухоли или

почечноклеточного рака. В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль включает мутацию BRAF (например, мутация V600E BRAF), BRAF дикого типа, KRAS дикого типа или активирующую мутацию KRAS. Злокачественная опухоль может представлять собой злокачественную опухоль на ранней, промежуточной или поздней стадии.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с одним, двумя или всеми из оксалиплатина, лейковорина или 5-FU (например, совместное лечение FOLFOX). Альтернативно или в комбинации, комбинация дополнительно включает ингибитор VEGF (например, ингибитор VEGF, как описано в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления комбинацию антитела против TIM-3, совместного лечения FOLFOX и ингибитора VEGF используют для лечения злокачественной опухоли (например, злокачественной опухоли, описанной в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль, которую лечат комбинацией, выбрана из меланомы, рака ободочной и прямой кишки, немелкоклеточного рака легкого, рака яичника, рака молочной железы, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, гематологической злокачественной опухоли или почечноклеточного рака. Злокачественная опухоль может представлять собой злокачественную опухоль на ранней, промежуточной или поздней стадии.

В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят с ингибитором тирозинкиназы (например, акситиниб) для лечения почечноклеточного рака и других солидных опухолей.

В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят с агентом, нацеленным на рецептор 4-1BB (например, антитело, которое стимулирует передачу сигнала через 4-1BB (CD-137), например, PF-2566). В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором тирозинкиназы (например, акситиниб) и средством, нацеленным на рецептор 4-1BB.

Молекула антитела против TIM-3 может быть связана с веществом, например, цитотоксическим средством или частью (например, терапевтическое лекарственное средство; соединение, испускающее радиационное излучение; молекулы растительного, грибного или бактериального происхождения; или биологический белок (например, белковый токсин) или частица (например, рекомбинантная вирусная частица, например, через белок вирусной оболочки)). Например, антитело может быть связано с радиоактивным изотопом, таким как α -, β - или γ -излучатель или β - и γ -излучатель.

Дополнительные комбинированные способы терапии

Способы и композиции, описанные в настоящем описании (например, антитела против TIM-3 и способы с их использованием) можно использовать в комбинации с другими средствами или терапевтическими режимами, например вторым лекарственным средством, выбранным из одного или нескольких средств, приведенных в табл. 6. В одном варианте осуществления способы, описанные в настоящем описании, включают введение индивидууму молекулы антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании (необязательно в комбинации с одним или несколькими ингибиторами PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, CEACAM (например, CEACAM-1 и/или CEACAM-5) или CTLA-4), кроме того, включают введение второго лекарственного средства, выбранного из одного или нескольких средств, приведенных в табл. 6, в количестве, эффективном для лечения или предупреждения нарушения, например нарушения, как описано в настоящем описании, например злокачественной опухоли. При введении в комбинации молекулу антитела против TIM-3, дополнительное средство (например, второе или третье средство) или все из них можно вводить в количестве или дозе, которая превышает, является более низкой или является такой же, как и количество или дозировка каждого средства по отдельности, например, в качестве монотерапии. В определенных вариантах осуществления введенное количество или дозировка антитела против TIM-3, дополнительного средства (например, второе или третье средство) или всех из них являются более низкими (например, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40% или по меньшей мере на 50%), чем количество или дозировка каждого средства, используемого отдельно, например, в качестве монотерапии. В других вариантах осуществления количество или дозировка антитела против TIM-3, дополнительного средства (например, второе или третье средство) или всех из них, которые приводят к желаемому эффекту (например, лечение злокачественной опухоли), являются более низкими (например, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40% или по меньшей мере на 50% более низкими).

В других вариантах осуществления второе лекарственное средство выбрано из одного или нескольких средств, приведенных в табл. 6. В одном варианте осуществления злокачественная опухоль выбрана из рака легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) (например, NSCLC с плоскоклеточной и/или неплоскоклеточной гистологией или аденокарцинома NSCLC)) или описана в публикации, приведенной в табл. 6. В некоторых вариантах осуществления второе лекарственное средство выбрано из одного или нескольких из: 1) ингибитора протеинкиназы C (PKC); 2) ингибитора белка теплового шока 90 (HSP90); 3) ингибитора фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и/или мишени рапамицина (mTOR); 4) ингибитора цитохрома P450 (например, ингибитор CYP17 или ингибитор 17-альфа-гидроксилазы/C17-20-лиазы); 5) хелатирующего железного агента; 6) ингибитора ароматазы; 7) ингибитора p53, например ингибитора взаимодействия p53/Mdm2; 8) индуктора апоптоза; 9) ингибитора ангиогенеза; 10) ингибитора альдостеронсинтазы; 11) ингибитора рецептора smoothed (SMO); 12) ингибитора рецептора пролактина

(PRLR); 13) ингибитора передачи сигнала Wnt; 14) ингибитора CDK4/6; 15) ингибитора фибробластного фактора роста рецептор 2 (FGFR2)/фибробластного фактора роста рецептор 4 (FGFR4); 16) ингибитора макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF); 17) ингибитора одного или нескольких из с-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC; 18) ингибитора одного или нескольких из VEGFR-2 (например, FLK-1/KDR), PDGFR-бета, с-KIT или Raf-киназы C; 19) агониста соматостатина и/или ингибитора высвобождения гормона роста; 20) ингибитора киназы анапластической лимфомы (ALK); 21) ингибитора рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R); 22) ингибитора Р-гликопротеина 1; 23) ингибитора рецептора сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGFR); 24) ингибитора киназы BCR-ABL; 25) ингибитора FGFR; 26) ингибитора CYP11B2; 27) ингибитора HDM2, например ингибитора взаимодействия HDM2-p53; 28) ингибитора тирозинкиназы; 29) ингибитора с-MET; 30) ингибитора JAK; 31) ингибитора DAC; 32) ингибитора 11 β -гидроксилазы; 33) ингибитора IAP; 34) ингибитора PIM-киназы; 35) ингибитора поркупина; 36) ингибитора BRAF, например V600E BRAF или BRAF дикого типа; 37) ингибитора HER3; 38) ингибитора MEK; или 39) ингибитора киназы липидов, например, как описано в настоящем описании и в табл. 6.

В одном варианте осуществления второе лекарственное средство выбрано из одного или нескольких из: соединение A8, соединение A17, соединение A23, соединение A24, соединение A27, соединение A29, соединение A33 и соединение A13.

В других вариантах осуществления второе лекарственное средство выбрано из одного или нескольких из: соединение A5, соединение A8, соединение A17, соединение A23, соединение A24, соединение A29 и соединение A40.

В других вариантах осуществления второе лекарственное средство выбрано из одного или нескольких из: соединение A9, соединение A16, соединение A17, соединение A21, соединение A22, соединение A25, соединение 28, соединение A48 и соединение 49.

В других вариантах осуществления второе лекарственное средство выбрано из модулятора апоптотического каскада, например ингибитора IDH1 или ингибитора Bcl-2 или Bcl-XL. В одном варианте осуществления второе лекарственное средство выбрано из соединения A21, A14 или их комбинации. Без связи с теорией, известно, что TIM-3 взаимодействует с PtdSer, который имеет тенденцию к экспонированию на поверхности апоптотических клеток и может вызывать иммуносупрессию. Блокада взаимодействия PtdSer-TIM-3, например, с использованием молекулы антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, может смягчать или преодолевать иммуносупрессию.

В других вариантах осуществления второе лекарственное средство представляет собой ингибитор CSF-1R, например антитело против CSF-1R или низкомолекулярный ингибитор (такой как соединение A15 или A33). Эти вторые лекарственные средства могут ингибировать макрофаги (например, макрофаги M2). В определенных вариантах осуществления такие вторые лекарственные средства могут облегчать преобразование в макрофаги M1.

В вариантах осуществления второе лекарственное средство вводят в терапевтической дозе или в дозе ниже терапевтической дозы. В определенных вариантах осуществления концентрация второго лекарственного средства, которая требуется для достижения ингибирования, например ингибирования роста, является более низкой, когда второе лекарственное средство вводят в комбинации с молекулой антитела против TIM-3, чем когда второе лекарственное средство вводят индивидуально. В определенных вариантах осуществления концентрация молекулы антитела против TIM-3, которая требуется для достижения ингибирования, например ингибирования роста, является более низкой, когда молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с вторым лекарственным средством, чем когда молекулу антитела против TIM-3 вводят индивидуально. В определенных вариантах осуществления при комбинированной терапии, концентрация второго лекарственного средства, которая требуется для достижения ингибирования, например ингибирования роста, является более низкой, чем терапевтическая доза второго лекарственного средства в качестве монотерапии, например на 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80% или 80-90% более низкой. В определенных вариантах осуществления при комбинированной терапии концентрация молекулы антитела против TIM-3, которая требуется для достижения ингибирования, например ингибирования роста, является более низкой, чем терапевтическая доза молекулы антитела против TIM-3 в качестве монотерапии, например на 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80% или 80-90% более низкой.

Обнаружение

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам обнаружения присутствия TIM-3 в образце, например, *in vitro* или *in vivo* (например, в биологическом образце, например, в крови, сыворотке, сперме или моче, или в биоптате ткани, например, из гиперпролиферативного или злокачественного очага). Способы, описанные в настоящем описании, можно использовать для оценки (например, мониторинга лечения или прогрессирования, диагностики и/или определения стадии нарушения, описанного в настоящем описании, например, иммунного нарушения, злокачественной опухоли или инфекционного заболевания у индивидуума). Способ может включать: (i) приведение в контакт образца (и необязательно эталонного, например, контрольного образца), или введение индивидууму с молекулой антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, в условиях, которые позволяют взаимодейст-

вие, и (ii) обнаружение того, происходит ли образование комплекса между молекулой антитела и образцом (и, необязательно, эталонным, например, контрольным образцом). Образование комплекса указывает на присутствие ТИМ-3 и может указывать на пригодность или необходимость лечения, описанного в настоящем описании. Способ может вовлекать, например, иммуногистохимию, иммуноцитохимию, точную цитометрию, молекулу антитела в комплексе с магнитными гранулами, анализы ELISA, способы ПЦР (например, ОТ-ПЦР).

Как правило, молекула антитела против ТИМ-3, используемая в диагностических способах *in vivo* и *in vitro*, является прямо или непрямо меченой поддающимся обнаружению веществом для облегчения обнаружения связанного или несвязанного связывающегося соединения. Подходящие поддающиеся обнаружению вещества включают различные биологически активные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы, парамагнитные (например, активные в отношении ядерного магнитного резонанса) материалы и радиоактивные материалы.

Дополнительные варианты осуществления относятся к способу лечения злокачественной опухоли, включающему: идентификацию в образце (например, образце от индивидуума, содержащем злокачественные клетки и необязательно иммунные клетки, такие как ТИЛ) присутствия одного, двух или всех из PD-L1, CD8 или IFN- γ , тем самым предоставляя величину для одного, двух или всех из PD-L1, CD8 и IFN- γ . Кроме того, способ может включать сравнение величин для PD-L1, CD8 и/или IFN- γ с эталонной величиной, например контрольной величиной. Если величины для PD-L1, CD8 и/или IFN- γ превышают эталонную величину, например контрольные величины, проводят введение терапевтически эффективного количества антитела против ТИМ-3 (например, антитело против ТИМ-3, описанное в настоящем описании) индивидууму, необязательно в комбинации с одним или несколькими другими средствами, тем самым осуществляя лечение злокачественной опухоли. Злокачественная опухоль может представлять собой, например, злокачественную опухоль, описанную в настоящем описании, такую как рак легкого (плоскоклеточный), рак легкого (аденокарцинома), рак головы и шеи, рак шейки матки (плоскоклеточный), рак желудка, рак щитовидной железы, меланома, рак носоглотки или рак молочной железы, например рак молочной железы TN, например рак молочной железы IM-TN. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой ER+ рак молочной железы или рак поджелудочной железы.

Также предусматривается способ лечения злокачественной опухоли, включающий: исследование образца (например, образца индивидуума, содержащего злокачественные клетки) в отношении присутствия PD-L1, тем самым идентифицируя величину для PD-L1, сравнение величины для PD-L1 с контрольной величиной и, если величина для PD-L1 превышает контрольную величину, введение терапевтически эффективного количества антитела против ТИМ-3 (например, антитело против ТИМ-3, описанное в настоящем описании) индивидууму, необязательно в комбинации с одним или несколькими другими средствами, например молекулой антитела против PD-1, тем самым осуществляя лечение злокачественной опухоли. Злокачественная опухоль может представлять собой, например, злокачественную опухоль, как описано в настоящем описании, такую как немелкоклеточная аденокарцинома легкого (NSCLC) (ACA), плоскоклеточная карцинома NSCLC (SCC) или печеночно-клеточная карцинома (HCC).

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к диагностическим или терапевтическим наборам, которые включают молекулы антитела против ТИМ-3, описанные в настоящем описании, и инструкции по применению.

Изобретение предусматривает все комбинации любых одного или нескольких из вышеуказанных аспектов и/или вариантов осуществления, а также комбинации с одним или несколькими из вариантов осуществления, указанных в подробном описании и примерах.

Другие признаки, задачи и преимущества композиций и способов, описанных в настоящем описании, станут понятными из описания и чертежей и из формулы изобретения.

К настоящему документу прилагаются чертежи и таблицы.

Краткое описание чертежей

Каждый из чертежей описан в настоящем описании более подробно.

На фиг. 1А-1В представлены иллюстративные антитела против ТИМ-3. На фиг. 1А представлены переменные области тяжелой цепи и легкой цепи АВТИМ3 (SEQ ID NO: 1 и 2, соответственно, в порядке встречаемости). На фиг. 1В представлено выравнивание последовательностей между переменными областями АВТИМ3 и антителами эмбрионального типа животных семейства мышинных (мышь) (SEQ ID NO: 134 и 135, соответственно, в порядке встречаемости). CDR заключены в рамку (изображены белым текстом на черном фоне в приоритетных документах).

На фиг. 2А-2Е проиллюстрировано связывание и активность различных антител против ТИМ-3. На фиг. 2А обобщенно представлены данные об аффинности для антитела мыши АВТИМ3 и другого связывающего ТИМ-3 антитела. На фиг. 2В показана кривая связывания для одной панели антител с ТИМ-3 человека в трансфицированных клетках. На фиг. 2С показана кривая связывания для второй панели антител, включая АВТИМ3 (треугольники), с ТИМ-3 человека в трансфицированных клетках. На фиг. 2D показана кривая связывания АВТИМ3 и других антител против ТИМ-3 с ТИМ-3 яванского макака. На фиг. 2Е

показана аффинность нескольких антител против TIM-3 в отношении TIM-3 яванского макака. Моноклональные антитело АВТІМ3 имеет наиболее высокую аффинность среди антител, исследованных в этих экспериментах, что указывает на то, что оно имеет высокую перекрестную реактивность с мишенями человека и обезьяны.

На фиг. 3А-3В показано, что моноклональные антитела против TIM-3, включая АВТІМ3, связываются с доменом IgV, в то время как 4А4 связывается с доменом муцина. На фиг. 3А проиллюстрирована рекомбинантная конструкция, использованная для анализа эпитопов. На фиг. 3В показано, что моноклональное антитело против TIM-3 (антитело против TIM-3 #3) и контрольные моноклональные антитела против PD-L1 (антитела против PD-L1 #1 и #2) связываются с химерным белком, представленным на фиг. 3А, в то время как антитело против TIM-3 #2 и АВТІМ3 по существу не связываются с ним.

На фиг. 4 иллюстрируется, что антитела против TIM-3 антитело против TIM-3 #2 и АВТІМ3 блокируют связывание TIM-3 с PtdSer (фосфатидилсерин).

На фиг. 5А-5В иллюстрируется, что антитело против TIM-3 АВТІМ3 усиливает секрецию IFN-гамма и пролиферацию в стимулированных IL-12 CD4+ Т-клетках. На фиг. 5А показаны результаты репрезентативного эксперимента, где клетки подвергались воздействию антител АВТІМ3, антитела против TIM-3 #2, mIgG1 и контрольного антитела против PD-L1 (слева направо). Уровни IFN измеряли проточной цитометрией. На фиг. 5В представлено количественное определение экспрессии IFN-гамма в клетках, подвергнутых воздействию этих четырех антител.

На фиг. 6 показано, что блокада АВТІМ3 усиливает цитотоксическую активность *in vitro* очищенных NK-клеток.

На фиг. 7 показано, что гуманизированные антитела против TIM-3 конкурировали за связывание с родительским антителом АВТІМ3 мыши в FACS-анализе.

На фиг. 8А-8В проиллюстрировано, что гуманизированные антитела против TIM-3 связываются с клетками, экспрессирующими TIM-3 человека. На фиг. 8А показано, что гуманизированные антитела против TIM-3 связываются с клетками, экспрессирующими huTIM-3, в FACS-анализе. На фиг. 8В показано, что гуманизированные антитела против TIM-3 конкурировали с родительским АВТІМ3 мыши за клетки, экспрессирующие huTIM-3, в FACS-анализе.

На фиг. 9А-9В проиллюстрирована структура Fab АВТІМ3-hum21, связывающегося с TIM-3. На фиг. 9А показана общая структура Fab АВТІМ3-hum21, связывающегося с TIM-3. На фиг. 9А обозначены: 1) установленные участки связывания PtdSer, Ca²⁺ и галектина-9 на TIM-3 человека и 2) названия β-цепей и петель ВС, FG и СС'. На фиг. 9В показано детальное изображение остатков эпитопов АВТІМ3-hum21 на TIM-3 (показаны в качестве стержней и обозначены). На фиг. 9В представлены остатки 56-61 ("GACPVF") в качестве SEQ ID NO: 136 и остатки 119-127 ("NDEKFNLKL") в качестве SEQ ID NO: 137.

На фиг. 10А-10С представлено сравнение эпитопа АВТІМ3-hum21 с участком связывания СЕАСАМ-1 на TIM-3 человека. На фиг. 10А представлено сравнение связывающих СЕАСАМ-1 остатков на TIM-3 (остатки 117-120 ("ІМND")), описанные в качестве SEQ ID NO: 138) (левая панель, серая поверхность, остатки обозначены) и эпитоп АВТІМ3-hum21 (правая панель, серая поверхность, остатки, которые перекрываются с участком связывания СЕАСАМ1, обозначены). Поскольку TIM-3 ориентирован одинаковым образом на обеих панелях, очевидно, что эпитоп АВТІМ3-hum21 перекрывается с участком связывания СЕАСАМ-1. На фиг. 10В показано, что K122 TIM-3 образует водородную связь с СЕАСАМ-1 (левая панель) и полностью блокируется посредством АВТІМ3-hum21 (правая панель). На фиг. 10С показаны изображения под двумя углами наложения структур TIM-3/Fab АВТІМ3-hum21 и TIM-3/СЕАСАМ-1, которые показывают выраженное столкновение между АВТІМ3-hum21 и TIM-3, что указывает на то, что АВТІМ3-hum21 будет нарушать связывание СЕАСАМ-1 с TIM-3.

На фиг. 11 иллюстрируется сравнение опосредуемого PtdSer проникновения через мембрану TIM-3 мыши (левая панель) и связывания АВТІМ3-hum21 с TIM-3 человека (правая панель). Две структуры TIM-3 ориентированы одинаково. Угол атаки АВТІМ3-hum21 является сходным с ориентацией мембраны, через которую проникает TIM-3, что указывает на то, что АВТІМ3-hum21 препятствует опосредуемому PtdSer проникновению TIM-3.

На фиг. 12 представлены онкологические заболевания с наиболее высокой экспрессией TIM-3 (HAVCR2) из базы данных TCGA.

На фиг. 13 показаны онкологические заболевания с наиболее высокой экспрессией профиля экспрессии макрофагов из базы данных TCGA.

На фиг. 14 представлены иллюстративные злокачественные опухоли, имеющие относительно высокие доли пациентов, которые являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN-γ.

На фиг. 15 представлен иллюстративный ER+ рак молочной железы и рак поджелудочной железы, имеющие относительно низкие доли пациентов, которые являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN-γ.

На фиг. 16 представлена доля иллюстративных пациентов с раком молочной железы, которые являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN-γ.

На фиг. 17 представлена доля пациентов с иллюстративным раком толстого кишечника, которые

являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN- γ .

На фиг. 18 показаны пептиды, для которых проводили мониторинг в экспериментах HDx-MS на TIM-3 человека (остатки с 23 по 135 ("SEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCGWKGACPVFECGNVLRTRDERDVNYWTSRYW LNDGFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVIKPAKVT") в SEQ ID NO: 139). Каждая планка соответствует пептиду.

На фиг. 19 проиллюстрированы отличия в захвате дейтерия комплексом TIM-3 и АВТИМ3-hum03 (серые столбики) и комплексом TIM-3 и АВТИМ3-hum11 (черные столбики) для аминокислот с 22 по 127. Все отличия приведены относительно захвата дейтерия несвязанным TIM-3 (контроль).

На фиг. 20 представлена конкуренция между АВТИМ3-hum21 и АВТИМ3-hum03 и АВТИМ3-hum11 за связывание с TIM3 человека, при определении с помощью проточно-цитометрического анализа.

На фиг. 21 представлена репрезентативная сенсограмма, полученная при исследовании в конкурентном анализе Вiasоге конкуренции между 1-м антителом и 2-м антителом за иммобилизованный TIM-3 человека.

На фиг. 22 показано, что АВТИМ3 повышает пролиферацию в сокультуре, содержащей дендритные клетки и Т-клетки (сокультура DC-Т). Сокультуры DC-Т инкубировали без антитела или с титрованными сериями разведений (0,01-25 мкг/мл) следующих антител: IgG1 мыши (контроль), АВТИМ3 или антитело против TIM3 #3.

На фиг. 23А-23В показана концентрация АВТИМ3-hum11, обнаруженная в сыворотке грызунов с течением времени. Указанные дозировки инъецировали мышам или крысам и вычисляли концентрацию антитела в крови в указанные моменты времени. На фиг. 23А показана средняя сывороточная концентрация ВТИМ3-hum11 у мышей после введения антитела. На фиг. 23В показана средняя сывороточная концентрация АВТИМ3-hum11 у крыс после введения антитела.

Краткое описание таблиц

Каждая из таблиц описана в настоящем описании более подробно.

В табл. 1 обобщенно представлены последовательности антитела мыши против TIM-3 АВТИМ3.

В табл. 2 представлены аминокислотные последовательности варибельного домена тяжелой цепи и варибельного домена легкой цепи АВТИМ3.

В табл. 3 представлены аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи и CDR легкой цепи АВТИМ3.

В табл. 4 обобщенно представлены аминокислотные и нуклеотидные последовательности для молекул антител против TIM-3 мыши и гуманизированных молекул антител против TIM-3. Молекулы антител включают АВТИМ3 мыши и гуманизированные антитела против TIM-3: АВТИМ3-hum01, АВТИМ3-hum02, АВТИМ3-hum03, АВТИМ3-hum04, АВТИМ3-hum05, АВТИМ3-hum06, АВТИМ3-hum07, АВТИМ3-hum08, АВТИМ3-hum09, АВТИМ3-hum10, АВТИМ3-hum11, АВТИМ3-hum12, АВТИМ3-hum13, АВТИМ3-hum14, АВТИМ3-hum15, АВТИМ3-hum16, АВТИМ3-hum17, АВТИМ3-hum18, АВТИМ3-hum19, АВТИМ3-hum20, АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum22 и АВТИМ3-hum23. В этой таблице представлены аминокислотные и нуклеотидные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, аминокислотные и нуклеотидные последовательности варибельных областей тяжелой и легкой цепей и аминокислотные и нуклеотидные последовательности тяжелой и легкой цепей.

В табл. 5 представлены аминокислотные последовательности константных областей тяжелых цепей IgG человека и легкой цепи каппа человека.

В табл. 6 обобщенно представлены отдельные лекарственные средства, которые можно вводить в комбинации с молекулами антител против TIM-3 и другими иммуномодуляторами (например, один или несколько из: активатора костимулирующей молекулы и/или ингибитора молекулы контрольной точки иммунного ответа), описанными в настоящем описании. В табл. 6 представлено слева направо следующее: обозначение соединения для второго лекарственного средства, структура соединения и патентная публикация(и), в которой описано соединение.

В табл. 7 обобщенно представлены величины K_D для связывания антитела против TIM-3 с активированными РВМС.

В табл. 8 обобщенно представлены величины K_D для связывания антитела против TIM-3 с конструкцией PD-L1 IgV/муцина TIM-3.

В табл. 9 обобщенно представлены величины K_D для панели гуманизированных антител против TIM-3 при измерении с помощью анализа Вiasоге.

В табл. 10 обобщенно представлены величины K_D для связывания антитела против TIM-3 с клетками, экспрессирующими TIM-3 человека.

В табл. 11 обобщенно представлены величины K_D для связывания антитела против TIM-3 с TIM-3-Ig.

В табл. 12 обобщенно представлены аминокислотные последовательности, использованные для определения кристаллической структуры.

В табл. 13 обобщенно представлены аминокислоты в TIM-3 и антителе против TIM-3, которые участвуют в связывающем взаимодействии.

В табл. 14 обобщенно представлены циклы конкурентного анализа Viacore.

В табл. 15 обобщенно представлены результаты конкурентного анализа Viacore.

В табл. 16 обобщенно представлены фармакокинетические свойства АВТМ3-hum11.

Подробное описание

Т-клеточный иммуноглобулиновый домен и домен 3 муцина (TIM-3, также известный как клеточный рецептор 2 вируса гепатита А и HAVCR2) представляет собой белок клеточной поверхности, экспрессируемый, например, на активированных CD4+ и CD8+ Т-клетках, естественных регуляторных Т-клетках (pTreg), NK-клетках и врожденных клетках, например макрофагах, моноцитах и дендритных клетках (DC). TIM-3, как правило, не экспрессируется на наивных Т-клетках, а скорее активируется на активированных эффекторных Т-клетках, например на подгруппе клеток PD-1+. TIM-3 также экспрессируется на тканевых естественных регуляторных клетках и в моделях на мышах. Было показано, что TIM-3+ Treg имеют более супрессивный фенотип, в то время как также было показано, что TIM-3+ Treg коррелируют с тяжестью заболевания при NSCLC, печеночно-клеточной карциноме и карциноме яичника. TIM-3 конститутивно экспрессируется на DC, моноцитах/макрофагах и NK-клетках, и было показано, что блокада TIM-3 коррелирует с повышенной цитотоксичностью в NK-клетках; увеличенной секрецией IL-12/TNF- α моноцитами/макрофагами; и увеличенной экспрессией NF- κ B в DC. Блокада TIM-3 (частично отдельно и аддитивно или синергически в комбинации с блокадой каскада PD-1) показала противоопухолевую эффективность в нескольких доклинических моделях злокачественной опухоли, включая карциному толстого кишечника CT26 (Sakuishi et al., *J Exp Med.* 2010; 207 (10):2187-94), саркому WT3 и карциному предстательной железы TRAMP-C1 (Ngiow et al., *Cancer Res.* 2011; 71 (10):3540-3551). Недавние исследования продемонстрировали, что TIM-3 является важным участником истощения и подавления эффекторных Т-клеток, которое происходит при хронических иммунных состояниях, таких как инфекция, например бактериальная или вирусная, и злокачественная опухоль как у человека, так и в экспериментальных моделях. TIM-3 был описан в качестве ингибиторного рецептора в иммунологических синапсах и блокирование TIM-3 может усилить иммунный ответ против инфекции и злокачественной опухоли.

Было показано, что блокада TIM-3 восстанавливает активность в эффекторных клетках, такую как секреция цитокинов и пролиферация. В истощенных вирусами клеточных популяциях, например инфицированные HCV клетки, экспрессирующие TIM-3 (TIM3+ клетки), экспрессируют меньше цитокинов TNF-альфа и IFN-гамма, чем отрицательные по TIM-3 клетки в обеих популяциях эффекторных клеток: CD4+ и CD8+ Т-клетках (Golden-Mason et al., 2009, *J. Virol.*, 83:9122). Блокада TIM-3 восстанавливает пролиферацию в CD8+ Т-клетках от пациента с ВИЧ или в клетках, которые воспроизводят вирусное истощение (Jones et al., 2008, *J. Exp. Med.*, 205:2763), или пролиферацию и секрецию IFN- γ и/или TNF- α в специфичных к NY-ESO-1 Т-клетках из РВМС от пациентов с метастазами (Fourcade et al., 2010, *J. Exp. Med.*, 207:2175).

Блокада TIM-3 также может уменьшать супрессорную активность регуляторных Т-клеток. Было обнаружено, что TIM-3+ Т-клетки концентрируются в опухолях и вносят вклад в иммунодепрессивное окружение опухоли (Sakuishi et al., 2013, *Oncoimmunology*, 2:e23849; Gao et al., 2012, *Plos One*; и Yan et al., 2013, *Plos One*.). Таким образом, блокада TIM-3, например, антителами, которые ингибируют функцию TIM-3, может повысить иммунный ответ против инфекции и противоопухолевой иммунитет.

TIM-3 также вовлечен в регуляцию иммунного ответа через активность макрофагов. Блокада TIM-3 приводит к увеличению опосредуемой TLR продукции IL-12 (Zhang et al., 2010, *J Leukoc Biol.*, 91:189). Таким образом, блокада TIM-3 может увеличить иммуностимулирующие свойства макрофагов, усиливая иммунный ответ против инфекции и противоопухолевую активность.

TIM-3 имеет пять описанных лигандов: галектин-9 (Gal-9), фосфатидилсерин (PtdSer), HMGB1, семафорин-4А и CEACAM-1. Лектин S-типа галектин-9 может ингибировать ассоциированную с TIM-3 эффекторную функцию Th1 и индуцировать апоптоз на экспрессирующих TIM-3 Т-клетках в моделях на мышах. PtdSer обычно находится на внутриклеточной стороне плазматической мембраны, однако перемещается на внеклеточную сторону в процессе апоптоза. PtdSer связывает щель, сохранившуюся во всех трех представителях семейства TIM человека (TIM-1, 3, 4). Ингибирование связывания PtdSer с TIM-3 может активировать Т-клеточный ответ. Галектин-9 секретируется опухолевыми клетками и может вносить вклад в ускользание от противоопухолевого иммунитета. ДНК-алармин HMGB1, для которого TIM-3 может выступать в качестве "грузила", может препятствовать взаимодействиям HMGB1/RAGE, которые стимулируют врожденный иммунитет. Семафорин-4А и CEACAM-1 (другая молекула контрольной точки иммунного ответа, ингибирование которой может усилить иммунный ответ) может взаимодействовать с TIM-3 как в цис-конфигурации в качестве гетеродимера на Т-клетках, так и в транс-конфигурации в качестве лиганда. Взаимодействие между CEACAM-1 и TIM-3 может помочь опосредованию блокирования передачи сигнала при иммунном ответе. Совместная блокада TIM-3 и CEACAM-1 в карциноме толстого кишечника CT26 продемонстрировала сходную эффективность с эффективностью, наблюдаемой для совместной блокады PD-L1 и TIM-3.

Цитоплазматическая хвостовая часть TIM-3 имеет семь участков для фосфорилирования тирозина и

не имеет известных ингибиторных (т.е. ИГИМ) мотивов, что указывает на то, что ТИМ-3 мог осуществлять костимуляцию с Т-клеточным рецептором, вызывая функциональное истощение через повышенную Т-клеточную передачу сигнала. ТИМ-3 может взаимодействовать с FcγR и способствовать накоплению рецепторных фосфатаз CD148 и CD45 в иммунологическом синапсе. Присутствие CEACAM-1 в качестве корецептора в гетеродимере ТИМ-3/CEACAM-1 указывает на то, что эта коэкспрессия может приводить к ингибиторной передаче сигнала в Т-клетках через мотив ИГИМ в цитоплазматической хвостовой части CEACAM-1, которая, как было показано, взаимодействует как с SHP1, так и с SHP2.

В настоящем описании описаны молекулы антител, которые связываются с ТИМ-3 с высокой аффинностью и специфичностью. В одном варианте осуществления описаны гуманизированные антитела против ТИМ-3. Дополнительные аспекты изобретения включают молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие молекулы антител, экспрессирующие векторы, клетки-хозяева, и также предусматриваются способы получения молекул антител. Также предусматриваются иммуноконъюгаты, полиспецифические или биспецифические молекулы антител и фармацевтические композиции, содержащие молекулы антител. Молекулы антител против ТИМ-3, описанные в настоящем описании, можно использовать (отдельно или в комбинации с другими средствами или терапевтическими режимами) для лечения, предупреждения и/или диагностики иммунных нарушений, злокачественной опухоли, инфекционного заболевания, болезни Крона, сепсиса, SIRS (синдром системного воспалительного ответа) и гломерулонефрита. Таким образом, в настоящем описании описаны композиции и способы для обнаружения ТИМ-3, а также способы лечения различных нарушений, включая злокачественную опухоль и иммунные нарушения, с использованием молекул антител против ТИМ-3.

Термин "ТИМ-3" включает изоформы, ТИМ-3 млекопитающих, например человека, видовые гомологи ТИМ-3 человека и аналоги, содержащие по меньшей мере один общий эпитоп с ТИМ-3. Аминокислотная последовательность ТИМ-3, например ТИМ-3 человека, известна в данной области, например Sabatos et al., 2003. *Nat Immunol*, 4(11):1102.

Определения

Как используют в рамках изобретения, форма единственного числа относится к одному или более чем к одному (например, по меньшей мере к одному) грамматическому объекту в форме единственного числа.

Термин "или" используют в настоящем описании для обозначения и используют взаимозаменяемо с термином "и/или", если контекст явно не указывает на иное.

"Приблизительно" и "приближенно", как правило, означает приемлемую степень ошибки для измеренного количества, учитывая природу или точность измерений. Иллюстративные степени ошибки находятся в пределах 20 процентов (%), как правило, в пределах 10%, и, более конкретно, в пределах 5% от данной величины или диапазона величин.

Композиции и способы, описанные в настоящем описании, охватывают полипептиды и нуклеиновые кислоты, имеющие указанные последовательности, или последовательности, по существу идентичные или сходные с ними, например последовательности по меньшей мере на 85%, 90%, 95% или выше идентичные указанной последовательности. В контексте аминокислотной последовательности термин "по существу идентичный" используют в настоящем описании для обозначения первой аминокислоты, которая содержит достаточное или минимальное количество аминокислотных остатков, которые i) являются идентичными или ii) являются консервативными заменами выровненных аминокислотных остатков во второй аминокислотной последовательности, так что первая и вторая аминокислотные последовательности могут иметь общий структурный домен и/или общую функциональную активность. Примерами являются аминокислотные последовательности, которые содержат общий структурный домен, обладающий по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью с эталонной последовательностью, например последовательностью, описанной в настоящем описании.

В контексте нуклеотидной последовательности термин "по существу идентичный" используют в настоящем описании для обозначения первой последовательности нуклеиновой кислоты, которая содержит достаточное или минимальное количество нуклеотидов, которые являются идентичными выровненным нуклеотидам во второй последовательности нуклеиновой кислоты, так что первая и вторая нуклеотидные последовательности кодируют полипептиды, обладающие общей функциональной активностью, или кодируют общий структурный полипептидный домен или общую функциональную активность полипептида. Примерами являются нуклеотидные последовательности, обладающие по меньшей мере приблизительно 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью с эталонной последовательностью, например последовательностью, описанной в настоящем описании.

Термин "функциональный вариант" относится к полипептидам, которые обладают по существу идентичной аминокислотной последовательностью со встречающейся в природе последовательностью или кодируются по существу идентичной нуклеотидной последовательностью и способны иметь один или несколько видов активности встречающейся в природе последовательности.

Для определения процентной идентичности двух аминокислотных последовательностей или двух последовательностей нуклеиновой кислоты последовательности выравнивают для целей оптимального

сравнения (например, можно вносить пропуски в одну или обе из первой и второй аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновой кислоты для оптимального выравнивания и негомологичными последовательностями можно пренебрегать для целей сравнения). В предпочтительном варианте осуществления длина эталонной последовательности, выровненной для цели сравнения, составляет по меньшей мере 30%, например по меньшей мере 40%, 50%, 60%, например по меньшей мере 70%, 80%, 90%, 100% от длины эталонной последовательности. Затем сравнивают аминокислотные остатки или нуклеотиды в соответствующих положениях аминокислот или положениях нуклеотидов. Когда положение в первой последовательности занято тем же аминокислотным остатком или нуклеотидом, что и соответствующее положение во второй последовательности, тогда молекулы являются идентичными в этом положении.

Процентная идентичность между двумя последовательностями является функцией количества идентичных положений между последовательностями с учетом количества пропусков и длины каждого пропуска, который необходимо вносить для оптимального выравнивания двух последовательностей.

Сравнение последовательностей и определение процентной идентичности между двумя последовательностями можно проводить с использованием математического алгоритма. В некоторых вариантах осуществления процентную идентичность между двумя аминокислотными последовательностями определяют с использованием алгоритма Needleman и Wunsch ((1970) *J. Mol. Biol.* 48:444-453), который был включен в программу GAP пакета программ GCG (доступный на <http://www.gcg.com>), с использованием либо матрицы Blossum 62, либо матрицы PAM250, и веса пропуска 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4 и веса продолжения пропуска 1, 2, 3, 4, 5 или 6. В определенных вариантах осуществления процентную идентичность между двумя нуклеотидными последовательностями определяют с использованием программы GAP в пакете программ GCG (доступный на <http://www.gcg.com>) с использованием матрицы NWSgapdna. CMP и веса пропуска 40, 50, 60, 70 или 80 и веса продолжения пропуска 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Одним из пригодных наборов параметров (и набор параметров, который следует использовать, если нет иных указаний) является оценочная матрица Blossum 62 со штрафом за пропуск 12, штрафом за продолжение пропуска 4 и штраф за пропуск со сдвигом рамки считывания 5.

Процентную идентичность между двумя аминокислотными или нуклеотидными последовательностями можно определять с использованием алгоритма E. Meyers и W. Miller ((1989) *CABIOS*, 4:11-17), который включен в программу ALIGN (версия 2.0), с использованием таблицы веса остатков PAM120, штрафа за продолжение пропуска 12 и штрафа за пропуск 4.

Последовательности нуклеиновой кислоты и белка, описанные в настоящем описании, можно использовать в качестве "последовательности запроса" для проведения поиска против общедоступных баз данных, например для идентификации других представителей семейства или родственных последовательностей. Такой поиск можно проводить с использованием программ NBLAST и XBLAST (версия 2.0) от Altschul, et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10. Нуклеотидный поиск BLAST можно проводить с использованием программы NBLAST, вес=100, длина слова=12, для получения нуклеотидных последовательностей, гомологичных нуклеиновой кислоте, как описано в настоящем описании. Поиск белков в BLAST можно проводить с использованием программы XBLAST, вес=50, длина слова=3, для получения аминокислотных последовательностей, гомологичных молекулам белка, описанным в настоящем описании. Для проведения выравниваний с пропусками для целей сравнения можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., (1997) *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST, можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST). См. www.ncbi.nlm.nih.gov.

Как используют в рамках изобретения, термин "гибридизуются в условиях низкой жесткости, умеренной жесткости, высокой жесткости или очень высокой жесткости" описывает условия для гибридизации и промывания. Руководство по проведению реакций гибридизации может быть найдено в публикации *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1- 6.3.6, которая включена посредством ссылки. В этой ссылке описаны водные и неводные способы, и можно использовать любой их них. Конкретные условия гибридизации, упоминаемые в настоящем описании, являются следующими: 1) условия гибридизации низкой жесткости в 6X хлориде натрия/цитрате натрия (SSC) при приблизительно 45°C, после чего следует два промывания в 0,2X SSC, 0,1% SDS по меньшей мере при 50°C (температура промываний может быть увеличена до 55°C для условий низкой жесткости); 2) условия гибридизации умеренной жесткости в 6X SSC при приблизительно 45°C, после чего следует одно или несколько промываний в 0,2X SSC, 0,1% SDS при 60°C; 3) условия гибридизации высокой жесткости в 6X SSC при приблизительно 45°C, после чего следует одно или несколько промываний в 0,2X SSC, 0,1% SDS при 65°C; и предпочтительно 4) условия гибридизации очень высокой жесткости представляют собой 0,5 М фосфат натрия, 7% SDS при 65°C, а затем одно или несколько промываний в 0,2X SSC, 1% SDS при 65°C. Условия очень высокой жесткости (4) являются подходящими условиями и условиями, которые следует использовать, если нет иных указаний.

Понятно, что молекулы, описанные в настоящем описании, могут иметь дополнительные консервативные аминокислотные замены или замены неосновных аминокислот, которые не имеют существенного эффекта на их функции.

"Консервативная аминокислотная замена" представляет собой замену, в которой аминокислотный остаток заменен аминокислотным остатком, имеющим сходную боковую цепь. Семейства аминокислотных остатков, имеющих сходные боковые цепи, определены в данной области. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотными боковыми цепями (например, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин).

Термины "полипептид", "пептид" и "белок" (если он является одноцепочечным) используют в настоящем описании взаимозаменяемо.

Термины "нуклеиновая кислота", "последовательность нуклеиновой кислоты", "нуклеотидная последовательность" или "полинуклеотидная последовательность" и "полинуклеотид" используют взаимозаменяемо.

Термин "выделенный", как используют в рамках изобретения, относится к материалу, который извлечен из его исходной или естественной среды (например, природная среда, если он является встречающимся в природе). Например, встречающийся в природе полинуклеотид или полипептид, присутствующий в живом животном, не является выделенным, однако тот же полинуклеотид или полипептид, отделенный посредством вмешательства человека от некоторых или всех сосуществующих с ним материалов в природной системе, является выделенным. Такие полинуклеотиды могут быть частью вектора и/или такие полинуклеотиды или полипептиды могут быть частью композиции, и все еще быть выделенными, поскольку такой вектор или композиция не являются частью среды, в которой они встречаются в природе.

Различные аспекты композиций и способов, описанных в настоящем описании, более подробно описаны ниже. На протяжении описания предоставлены дополнительные определения.

Молекулы антител

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела связывается с ТИМ-3 млекопитающего, например человека. Например, молекула антитела связывается специфически с эпитопом, например линейным или конформационным эпитопом (например, эпитоп, как описано в настоящем описании) на ТИМ-3. В некоторых вариантах осуществления эпитоп представляет собой по меньшей мере часть домена IgV ТИМ-3 человека или яванского макака.

Как используют в рамках изобретения, термин "молекула антитела" относится к белку, например цепи иммуноглобулина или ее фрагменту, содержащему по меньшей мере одну последовательность вариабельного домена иммуноглобулина. Термин "молекула антитела" включает, например, моноклональное антитело (включая полноразмерное антитело, которое обладает Fc-областью иммуноглобулина). В одном варианте осуществления молекула антитела включает полноразмерное антитело или полноразмерную цепь иммуноглобулина. В одном варианте осуществления молекула антитела содержит антиген-связывающий или функциональный фрагмент полноразмерного антитела или полноразмерной цепи иммуноглобулина.

В одном варианте осуществления молекула антитела представляет собой моноспецифическую молекулу антитела и связывает один эпитоп. Примером является моноспецифическая молекула антитела, имеющая множество последовательностей вариабельного домена иммуноглобулина, каждая из которых связывает один и тот же или по существу один и тот же эпитоп.

В одном варианте осуществления молекула антитела представляет собой мультиспецифическую молекулу антитела, например, она содержит множество последовательностей вариабельных доменов иммуноглобулинов, где первая последовательность вариабельного домена иммуноглобулина из множества обладает специфичностью связывания в отношении первого эпитопа и вторая последовательность вариабельного домена иммуноглобулина из множества обладает специфичностью связывания в отношении второго эпитопа. В одном варианте осуществления первый и второй эпитопы находятся на одном антигене, например на одном и том же белке (или субъединице мультимерного белка). В одном варианте осуществления первый и второй эпитопы перекрываются или по существу перекрываются. В одном варианте осуществления первый и второй эпитопы не перекрываются или по существу не перекрываются. В одном варианте осуществления первый и второй эпитопы находятся на различных антигенах, например на различных белках (или различных субъединицах мультимерного белка). В одном варианте осуществления мультиспецифическая молекула антитела содержит третий, четвертый или пятый вариабельный домен иммуноглобулина. В одном варианте осуществления мультиспецифическая молекула антитела представляет собой биспецифическую молекулу антитела, триспецифическую молекулу антитела или тетраспецифическую молекулу антитела.

В одном варианте осуществления мультиспецифическая молекула антитела представляет собой биспецифическую молекулу антитела. Биспецифическая молекула антитела обладает специфичностью в отношении не более чем двух антигенов. Биспецифическая молекула антитела характеризуется первой последовательностью вариабельного домена иммуноглобулина, которая обладает специфичностью свя-

звания в отношении первого эпитопа, и второй последовательностью варибельного домена иммуноглобулина, которая обладает специфичностью связывания в отношении второго эпитопа. В одном варианте 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 варианте осуществления первый и второй эпитопы перекрываются или по существу перекрываются. В одном варианте осуществления первый и второй эпитопы не перекрываются или по существу не перекрываются. В одном варианте осуществления первый и второй эпитопы находятся на различных антигенах, например различных белках (или различных субъединицах мультимерного белка). В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела содержит последовательность варибельного домена легкой цепи и последовательность варибельного домена легкой цепи, которые обладают специфичностью связывания в отношении первого эпитопа, и последовательность варибельного домена тяжелой цепи и последовательность варибельного домена легкой цепи, которые обладают специфичностью связывания в отношении второго эпитопа. В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела содержит половинное антитело, обладающее специфичностью связывания в отношении первого эпитопа, и половинное антитело, обладающее специфичностью связывания в отношении второго эпитопа. В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела содержит половинное антитело или его фрагмент, обладающие специфичностью связывания в отношении первого эпитопа, и половинное антитело или его фрагмент, обладающие специфичностью связывания в отношении второго эпитопа. В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела содержит scFv или его фрагмент, которые обладают специфичностью связывания в отношении первого эпитопа, и scFv или его фрагмент, которые обладают специфичностью связывания в отношении второго эпитопа. В одном варианте осуществления первый эпитоп расположен на TIM-3 и второй эпитоп расположен на PD-1, LAG-3, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5), PD-L1 или PD-L2.

В одном варианте осуществления молекула антитела включает диантитело, одноцепочечную молекулу, а также антигенсвязывающий фрагмент антитела (например, Fab, F(ab')₂ и Fv). Например, молекула антитела может включать последовательность варибельного домена тяжелой (H) цепи (сокращенно обозначаемая в настоящем описании как VH), и последовательность варибельного домена легкой (L) цепи (сокращенно обозначаемая в настоящем описании как VL). В одном варианте осуществления молекула антитела содержит или состоит из тяжелой цепи или легкой цепи (сокращенно обозначаемая в настоящем описании как половинное антитело). В другом примере молекула антитела включает две последовательности варибельного домена тяжелой (H) цепи и две последовательности варибельного домена легкой (L) цепи, тем самым формируя два антигенсвязывающих центра, как например, Fab, Fab', F(ab')₂, Fc, Fd, Fd', Fv, одноцепочечные антитела (например, scFv), антитела с одним варибельным доменом, диантитела (Dab) (двухвалентные и биспецифические) и химерные (например, гуманизированные) антитела, которые можно получать путем модификации целых антител или антител, синтезированных *de novo* с использованием технологий рекомбинантных ДНК. Эти функциональные фрагменты антител сохраняют способность селективно связываться с их соответствующим антигеном или рецептором. Антитела и фрагменты антител могут происходить из любого класса антител, включая, но не ограничиваясь ими, IgG, IgA, IgM, IgD и IgE, и из любого подкласса (например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) антител. Препарат молекул антител может быть моноклональным или поликлональным. Молекула антитела также может представлять собой антитело человека, гуманизированное антитело, антитело с пересаженными CDR или полученное *in vitro* антитело. Антитело может иметь константную область тяжелой цепи, выбранную, например, из IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. Антитело может иметь легкую цепь, выбранную, например, из каппа или ламбда. Термин "иммуноглобулин" (Ig) используют в настоящем описании взаимозаменяемо с термином "антитело".

Примеры антигенсвязывающих фрагментов молекулы антитела включают: (i) Fab-фрагмент, одновалентный фрагмент, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1; (ii) F(ab')₂-фрагмент, двухвалентный фрагмент, содержащий два Fab-фрагмента, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) Fd-фрагмент, состоящий из доменов VH и CH1; (iv) Fv-фрагмент, состоящий из доменов VL и VH одного плеча антитела, (v) фрагмент диантитела (dAb), который состоит из VH-домена; (vi) варибельный домен животного семейства верблюжьих или камелизованный варибельный домен; (vii) одноцепочечный Fv (scFv), см., например, Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426; и Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; (viii) однодоменное антитело. Эти фрагменты антител можно получать с использованием любого подходящего способа, включая несколько общепринятых способов, известных специалистам в данной области, и фрагменты можно подвергать скринингу в отношении применимости также, как и интактные антитела.

Термин "антитело" включает интактные молекулы, а также их функциональные фрагменты. Константные области антитела могут быть изменены, например, посредством мутации, для модификации свойств антитела (например, для увеличения или снижения одного или нескольких из: связывание Fc-рецептора, гликозилирование антитела, количества остатков цистеина, эффекторная функция клеток или функция комплемента).

Антитела, описанные в настоящем описании, также могут представлять собой однодоменные анти-

тела. Однодоменные антитела могут включать антитела, определяющие комплементарность области которых являются частью однодоменного полипептида. Примеры включают, но не ограничиваются ими, антитела с тяжелой цепью, антитела, естественным образом лишенные легких цепей, однодоменные антитела, происходящие из общепринятых антител с 4 цепями, модифицированные способами инженерии антитела и однодоменные каркасы, отличные от каркасов, происходящих из антител. Однодоменные антитела могут представлять собой любое однодоменное антитело уровня техники или любое однодоменное антитело, которое появится в будущем. Однодоменные антитела могут происходить из любого вида, включая, но не ограничиваясь ими, мышь, человека, верблюда, ламу, рыбу, козу, кролика и жвачные животные. Согласно некоторым аспектам однодоменное антитело представляет собой встречающееся в природе однодоменное антитело, известное как антитело с тяжелой цепью, лишенное легких цепей. Такие однодоменные антитела описаны, например, в WO 9404678. Для ясности, этот переменный домен, происходящий из антитела с тяжелой цепью, естественным образом лишенный легкой цепи, известен в настоящем описании как VHH или наноантитело, чтобы отличить его от общепринятой VH иммуноглобулинов с тяжелой цепью. Такая молекула VHH может происходить из антител, индуцированных в видах Camelidae, например в верблюде, ламе, дромедаре, алпаке и гуанако. Другие виды, помимо Camelidae, могут продуцировать антитела с тяжелой цепью, естественным образом лишенные легкой цепи; такие VHH также предусматриваются.

Области VH и VL могут быть подразделены на области гипервариабельности, называемые "определяющими комплементарность областями" (CDR), расположенные между областями, которые являются более консервативными областями, называемыми "каркасными областями" (FR). Протяженность каркасной области и CDR была точно определена рядом способов (см., Kabat, E.A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Chothia, C. et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; и определение AbM, используемое программным обеспечением для модулирования антитела AbM от Oxford Molecular. См., главным образом, например, Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). В некоторых вариантах осуществления используют следующие определения: определение CDR1 переменного домена тяжелой цепи согласно AbM и определения других CDR согласно Kabat. В определенных вариантах осуществления для всех CDR используют определения Kabat. Кроме того, варианты осуществления, описанные в отношении CDR согласно Kabat или AbM, также могут быть осуществлены с использованием гипервариабельных петель Chothia. Каждая VH и VL, как правило, включает три CDR и четыре FR, расположенных от N-конца к C-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Как используют в рамках изобретения, "последовательность переменного домена иммуноглобулина" относится к аминокислотной последовательности, которая может формировать структуру переменного домена иммуноглобулина. Например, последовательность может включать всю или часть аминокислотной последовательности встречающегося в природе переменного домена. Например, последовательность может включать или может не включать одну, две или более N- или C-концевых аминокислот, или может включать другие изменения, которые совместимы с образованием белковой структуры.

Термин "антигенсвязывающий центр" относится к части молекулы антитела, которая содержит детерминанты, которые формируют поверхность контакта, которая связывается с полипептидом TIM-3 или его эпитопом. Что касается белков (или миметиков белков), антигенсвязывающий центр, как правило, включает одну или несколько петель (по меньшей мере, например, из четырех аминокислот или миметиков аминокислот), которые формируют поверхность контакта, которая связывается с полипептидом TIM-3. Как правило, антигенсвязывающий центр молекулы антитела включает по меньшей мере одну или две CDR или, более конкретно, по меньшей мере три, четыре, пять или шесть CDR.

Термины "конкурируют" или "перекрестно конкурируют" используют в настоящем описании взаимозаменяемо для обозначения способности молекулы антитела препятствовать связыванию молекулы антитела против TIM-3, например молекулы антитела против TIM-3, описанной в настоящем описании, с мишенью, например TIM-3 человека. Препятствование связыванию может быть прямым или косвенным (например, через аллостерическое модулирование молекулы антитела или мишени). Степень, с которой молекула антитела способна препятствовать связыванию другой молекулы антитела с мишенью и, таким образом, то, можно ли утверждать о конкуренции, можно определять с использованием конкурентного анализа связывания, например FACS-анализа, анализа ELISA или BIACORE. В некоторых вариантах осуществления конкурентный анализ связывания представляет собой количественный конкурентный анализ. В некоторых вариантах осуществления первую молекулу антитела против TIM-3 называют конкурирующей за связывание мишени со второй молекулой антитела против TIM-3, когда связывание первой молекулы антитела с мишенью снижено на 10% или более, например 20% или более, 30% или более, 40% или более, 50% или более, 55% или более, 60% или более, 65% или более, 70% или более, 75% или более, 80% или более, 85% или более, 90% или более, 95% или более, 98% или более, 99% или более в конкурентном анализе связывания (например, конкурентный анализ, описанный в настоящем описании).

Как используют в рамках изобретения, термин "эпитоп" относится к частям антигена (например, TIM-3 человека), которые специфически взаимодействуют с молекулой антитела. Такие части, упоми-

наемые в настоящем описании как эпитопные детерминанты, как правило, содержат или являются частью элементов, таких как боковые цепи аминокислот или боковые цепи сахаров. Эпитопная детерминанта может быть определена способами, известными в данной области или описанными в настоящем описании, например, посредством кристаллографии или водород-дейтериевого обмена. По меньшей мере одна или некоторые из частей на молекуле антитела, которые специфически взаимодействуют с эпитопной детерминантой, как правило, расположены в CDR (нескольких CDR). Как правило, эпитоп имеет определенные характеристики трехмерной структуры. Как правило, эпитоп имеет определенные зарядовые характеристики. Некоторые эпитопы представляют собой линейные эпитопы, в то время как другие являются конформационными эпитопами.

В одном варианте осуществления эпитопная детерминанта является частью на антигене, например такой, как боковая цепь аминокислоты, или боковая цепь сахара, или их часть, которая, когда антиген и молекулу антитела сокристаллизуют, находится на заданном расстоянии, например в пределах 5 ангстрем, от части на молекуле антитела, называемой в настоящем описании "кристаллографической эпитопной детерминантой".

Кристаллографические эпитопные детерминанты эпитопа в совокупности называют в настоящем описании "кристаллографическим эпитопом".

Первая молекула антитела связывается с тем же эпитопом, что и вторая молекула антитела (например, эталонная молекула антитела, например, молекула антитела, описанная в настоящем описании, например, АВТІМ3-hum21, АВТІМ-hum11 или АВТІМ3-hum03), если первое антитело специфически взаимодействует с теми же эпитопными детерминантами на антигене, что и второе или эталонное антитело, например, когда взаимодействие измеряют одинаковым путем как для антитела, так и для второго или эталонного антитела. Эпитопы, которые перекрываются, обладают по меньшей мере одной общей эпитопной детерминантой. Первая молекула антитела связывает перекрывающийся эпитоп со второй молекулой антитела (например, эталонной молекулой антитела, например, антителом, описанным в настоящем описании, например, АВТІМ3-hum21, АВТІМ-hum11 или АВТІМ3-hum03), когда обе молекулы антитела специфически взаимодействуют с общей эпитопной детерминантой. Первая и вторая молекулы антитела (например, эталонная молекула антитела, например, молекула антитела, описанная в настоящем описании, например, АВТІМ3-hum21, АВТІМ-hum11 или АВТІМ3-hum03) связывает по существу перекрывающиеся эпитопы, если по меньшей мере половина эпитопных детерминант второго или эталонного антитела встречаются в качестве эпитопных детерминант в эпитопе первого антитела. Первая и вторая молекулы антитела (например, эталонная молекула антитела, например, молекула антитела, описанная в настоящем описании, например, АВТІМ3-hum21, АВТІМ-hum11 или АВТІМ3-hum03) связывают по существу один и тот же эпитоп, если первая молекула антитела связывает по меньшей мере половину центральных эпитопных детерминант второго или эталонного антитела, где центральные эпитопные детерминанты определяют посредством кристаллографии и водородно-дейтериевого обмена, например, включая остатки Val24, Glu25, Thr41, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127, Val128, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60 и Phe61 ТІМ-3 человека.

Термины "моноклональные антитело" или "композиция моноклонального антитела", как используют в рамках изобретения, относятся к препарату молекул антител с единой молекулярной композицией. Композиция моноклональных антител проявляет одну специфичность связывания и аффинность в отношении конкретного эпитопа. Моноклональное антитело можно получать посредством технологии гибридом или способами, в которых не используется технология гибридом (например, рекомбинантные способы).

"Эффективный белок человека" представляет собой белок, который не индуцирует ответ нейтрализующих антител, например ответ человека против антител мыши (НАМА). НАМА может быть проблемой в ряде случаев, например, если молекулу антитела вводят многократно, например, при лечении хронического или рецидивирующего заболевания. Ответ НАМА может приводить к тому, что многократное введение антител становится неэффективным вследствие увеличенного выведения антител из сыворотки (см., например, Saleh et al., *Cancer Immunol. Immunother.*, 32:180-190 (1990)) и также вследствие потенциальных аллергических реакций (см., например, LoBuglio et al., *Hybridoma*, 5:5117-5123 (1986)).

Молекула антитела может представлять собой поликлональное или моноклональное антитело. В других вариантах осуществления антитело может быть рекомбинантно продуцированным, например продуцированным любыми подходящими способами фагового дисплея или комбинаторными способами.

В данной области известны различные способы фагового дисплея и комбинаторные способы получения антител (как описано, например, в Ladner et al., патент США № 5223409; Kang et al., международная публикация № WO 92/18619; Dower et al., международная публикация № WO 91/17271; Winter et al., международная публикация № WO 92/20791; Markland et al., международная публикация № WO 92/15679; Breitling et al., международная публикация № WO93/01288; McCafferty et al., международная публикация № WO 92/01047; Garrard et al., международная публикация № WO 92/09690; Ladner et al., международная публикация № WO 90/02809; Fuchs et al. (1991) *Bio/Technology* 9:1370-1372; Hay et al. (1992) *Hum Antibod Гибридомы* 3:81-85; Huse et al. (1989) *Science* 246:1275-1281; Griffiths et al. (1993) *EMBO J* 12:725-734; Hawkins et al. (1992) *J Mol Biol* 226:889-896; Clackson et al. (1991) *Nature* 352:624-

628; Gram et al. (1992) PNAS 89:3576-3580; Garrad et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) Nuc Acid Res 19:4133-4137; и Barbas et al. (1991) PNAS 88:7978-7982, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки).

В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой полностью человеческое антитело (например, антитело, продуцированное мышью, которая была генетически модифицирована для продукции антител с последовательностями иммуноглобулинов человека) или не являющееся человеческим антитело, например антитело грызуна (мышь или крысы), козы, примата (например, обезьяна), верблюда. В определенных вариантах осуществления не являющееся человеческим антитело представляет собой антитело грызуна (антитело мыши или крысы). Способы получения антител грызунов известны в данной области.

Моноклональные антитела человека можно получать с использованием трансгенных мышей, содержащих гены иммуноглобулинов человека вместо системы мыши. Спленоциты из этих трансгенных мышей, иммунизированных представляющим интерес антигеном, используют для получения гибридом, которые секретируют mAb человека со специфической аффинностью в отношении эпитопов из белка человека (см., например, Wood et al., международная заявка WO 91/00906, Kucherlapati et al., публикация PCT WO 91/10741; Lonberg et al., международная заявка WO 92/03918; Kay et al., международная заявка 92/03917; Lonberg, N. et al. 1994 Nature 368:856-859; Green, L.L. et al. 1994 Nature Genet. 7:13-21; Morrison, S.L. et al. 1994 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855; Bruggeman et al. 1993 Year Immunol 7:33-40; Tuailon et al. 1993 PNAS 90:3720-3724; Bruggeman et al. 1991 Eur J Immunol 21:1323-1326).

Антитело может представлять собой антитело, в котором переменная область или ее часть, например CDR, продуцированы в организме не человека, например крысы или мыши. Также предусматриваются химерные антитела, антитела с пересаженными CDR и гуманизированные антитела. Также предусматриваются антитела, продуцированные в организме не человека, например крысы или мыши, а затем модифицированные, например, в переменной каркасной области или константной области, для снижения антигенности у человека.

Химерные антитела можно продуцировать любым подходящим способом рекомбинантных ДНК. В данной области известно несколько таких способов (см. Robinson et al., международная публикация патента PCT/US86/02269; Akira, et al., патентная заявка Европы 184187; Taniguchi, M., патентная заявка Европы 171496; Morrison et al., патентная заявка Европы 173494; Neuberger et al., международная заявка WO 86/01533; Cabilly et al., патент США № 4816567; Cabilly et al., патентная заявка Европы 125023; Better et al. (1988 Science 240:1041-1043); Liu et al. (1987) PNAS 84:3439-3443; Liu et al., 1987, J. Immunol. 139:3521-3526; Sun et al. (1987) PNAS 84:214-218; Nishimura et al., 1987, Canc. Res. 47:999-1005; Wood et al. (1985) Nature 314:446-449; и Shaw et al., 1988, J. Natl Cancer Inst. 80:1553-1559).

В гуманизированном антителе или антителе с пересаженными CDR по меньшей мере одна или две, но, как правило, все три реципиентных CDR (тяжелой и/или легкой цепей иммуноглобулинов) заменены донорной CDR. В антителе могут быть заменены по меньшей мере часть не являющейся человеческой CDR, или только некоторые из CDR могут быть заменены не являющимися человеческими CDR. Является необходимой только замена ряда CDR, требуемых для связывания гуманизированного антитела с TIM-3. В некоторых вариантах осуществления донором является антитело грызуна, например антитело крысы или мыши, и реципиентом является каркасная область человека или консенсусная каркасная область человека. Как правило, иммуноглобулин, предоставляющий CDR, называют "донором" и иммуноглобулин, предоставляющий каркасную область, называют "акцептором". В некоторых вариантах осуществления донорный иммуноглобулин не является человеческим (например, грызуна). Акцепторная каркасная область, как правило, представляет собой встречающуюся в природе (например, человеческую) каркасную область или консенсусную каркасную область или последовательность, приблизительно на 85% или более, например на 90%, 95%, 99% или более, идентичную им.

Как используют в рамках изобретения, термин "консенсусная последовательность" относится к последовательности, образованной из наиболее часто встречающихся аминокислот (или нуклеотидов) в семействе родственных последовательностей (см., например, Winnaker, From Genes to Clones (Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany 1987). В семействе белков каждое положение в консенсусной последовательности занято аминокислотной, наиболее часто встречающейся в этом положении в семействе. Если две аминокислоты встречаются с равной частотой, в консенсусную последовательность может быть включена любая из них. "Консенсусная каркасная область" относится к каркасной области в консенсусной последовательности иммуноглобулина.

Антитело можно гуманизировать любым подходящим способом, и в данной области известно несколько таких способов (см., например, Morrison, S. L., 1985, Science 229:1202-1207, by Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214, и Queen et al. US 5585089, US 5693761 и US 5693762, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки).

Гуманизированные антитела или антитела с пересаженными CDR можно получать посредством пересадки CDR или замены CDR, где одна, две или все CDR цепи иммуноглобулина могут быть заменены. См., например, патент США 5225539; Jones et al. 1986 Nature 321:552-525; Verhoevan et al. 1988 Science 239:1534; Beidler et al. 1988 J. Immunol. 141:4053-4060; Winter US 5225539, содержание каждого из кото-

рых прямо включено в настоящее описание посредством ссылки. В Winter описан способ пересадки CDR, который можно использовать для получения гуманизированных антител (патентная заявка Великобритании GB 2188638A, поданная 26 марта 1987 года; Winter, US 5225539, содержание каждой из которых прямо включено в настоящее описание посредством ссылки).

Также предусматриваются гуманизированные антитела, в которых конкретные аминокислоты замещены, удалены или вставлены. Критерии выбора аминокислот донора описаны, например, в US 5585089, например, в колонках 12-16 US 5585089, содержание которого включено в настоящее описание посредством ссылки.

Другие способы гуманизации антител описаны в Padlan et al. EP 519596A1, опубликованной 23 декабря 1992 года.

Молекула антитела может представлять собой одноцепочечное антитело. Одноцепочечное антитело (scFV) может быть сконструировано способами инженерии (см., например, Colcher, D. et al. (1999) *Allyl N Y Acad Sci* 880:263-80; и Reiter, Y. (1996) *Clin Cancer Res* 2:245-52). Одноцепочечное антитело может быть димеризованным или мультимеризованным для получения поливалентных антител, обладающих специфичностью в отношении различных эпитопов на одном и том же белке-мишени.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела имеет константную область тяжелой цепи, выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE; в частности выбранную, например, из константных областей тяжелой цепи (например, человека) IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. В другом варианте осуществления молекула антитела имеет константную область легкой цепи, выбранную, например, из константных областей легкой цепи каппа и лямбда (например, человека). Константную область можно изменять, например, посредством мутации, для модификации свойств антитела (например, для повышения или снижения одного или нескольких из: связывания Fc-рецептора, гликозилирования антитела, количества остатков цистеина, функции эффекторных клеток и/или функции комплемента). В некоторых вариантах осуществления антитело имеет эффекторную функцию и может фиксировать комплемент. В других вариантах осуществления антитело не привлекает эффекторные клетки или не фиксирует комплемент. В определенных вариантах осуществления антитело имеет сниженную способность или не имеет способности связывать Fc-рецептор. Например, оно может представлять собой изотип или подтип, фрагмент или другой мутант, который не поддерживает связывание с Fc-рецептором, например, оно имеет мутантную или удаленную область связывания Fc-рецептора.

В некоторых вариантах осуществления константная область антитела изменена. Способы изменения константной области антитела известны в данной области. Антитела с измененной функцией, например измененной аффинностью в отношении эффекторного лиганда, такого как FcR на клетке, или компонент C1 комплемента, можно получать путем замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка в константной части антитела другим остатком (см., например, EP 388151A1, патент США № 5624821 и патент США № 5648260, содержание всех из которых включено в настоящее описание посредством ссылки). Также предусматриваются мутации аминокислот, которые стабилизируют структуру антитела, такие как S228P (номенклатура EU, S241P согласно номенклатуре Kabat) в IgG4 человека. Может быть описан сходный тип изменений, который, при применении к иммуноглобулину мыши или другого вида снизит или устранил эти функции.

В некоторых вариантах осуществления аминокислоты в молекуле антитела против TIM-3 представляют собой только канонические аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит встречающиеся в природе аминокислоты; их аналоги, производные и родственные соединения; аминокислотные аналоги, имеющие отличающиеся боковые цепи; и/или все стереоизомеры любого из вышеуказанных. Молекула антитела против TIM-3 может содержать D- или L-оптические изомеры аминокислот и пептидомиметиков.

Полипептид молекулы антитела против TIM-3 может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты, и он может прерываться не аминокислотами. Молекула антитела также может быть модифицированной, например, образованием дисульфидной связи, гликозилированием, липидированием, ацетилированием, фосфорилированием или любой другой манипуляцией, такой как конъюгация с компонентом для мечения. Полипептид может быть выделенным из природных источников, может быть продуцирован рекомбинантными способами из эукариотического или прокариотического хозяина или он может быть продуктом методик синтеза.

Молекула антитела может быть дериватизирована или связана с другой функциональной молекулой (например, другой пептид или белок). Как используют в рамках изобретения, "дериватизированная" молекула антитела представляет собой молекулу, которая модифицирована. Способы дериватизации включают, но не ограничиваются ими, присоединение флуоресцентной части, радионуклеотида, токсина, фермента или аффинного лиганда, такого как биотин. Таким образом, подразумевается, что молекулы антитела включают дериватизированные или иным образом модифицированные формы антител, описанных в настоящем описании, включая молекулы иммуноадгезии. Например, молекула антитела может быть функционально связана (посредством химического связывания, генетического слияния, нековалентной ассоциации или иным образом) с одной или несколькими другими молекулярными структурами,

такими как другое антитело (например, биспецифическое антитело или диантитело), поддающийся обнаружению агент, цитотоксический агент, фармацевтическое средство и/или белок или пептид, которые могут опосредовать ассоциацию антитела или части антител с другой молекулой (такой как центральная область стрептавидина или полигистидиновая метка).

Некоторые типы дериватизированной молекулы антитела получают путем сшивания двух или более антител (одного типа или различных типов, например, с получением биспецифических антител). Подходящие шиватели включают шиватели, которые являются гетеробифункциональными, имеющими две отдельных реакционноспособных группы, разделенных соответствующим спейсером (например, малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидный эфир) или гомобифункциональными (например, дисукцинимидилсуберат). Такие линкеры доступны от Pierce Chemical Company, Rockford, 111.

Подходящие подающиеся обнаружению средства, посредством которых может быть дериватизирована (или мечена) молекула антитела против ТИМ-3, включают флуоресцентные соединения, различные ферменты, простетические группы, люминесцентные материалы, биолюминесцентные материалы, испускающие флуоресценцию атомы металлов, например европий (Eu) и другие лантаноиды, и радиоактивные материалы (описанные ниже). Иллюстративные флуоресцентные подающиеся обнаружению средства включают флуоресцеин, флуоресцеин изотиоцианат, родамин, 5-диметиламин-1-нафталинсульфонилхлорид, фикоэритрин и т.п.

Антитело также может быть дериватизировано поддающимися обнаружению ферментами, такими как щелочная фосфатаза, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, ацетилхолинэстераза, глюкозооксидаза и т.п. Когда антитело дериватизировано поддающимся обнаружению ферментом, его выявляют добавлением дополнительных реагентов, которые фермент использует для продукции поддающегося обнаружению продукта реакции. Например, когда присутствует поддающееся обнаружению средство пероксидаза хрена, добавление пероксида водорода и диаминобензидина приводит к окрашенному продукту реакции, который поддается обнаружению. Молекула антитела также может быть дериватизирована простетической группой (например, стрептавидин/биотин и авидин/биотин). Например, антитело может быть дериватизировано биотином и может быть обнаружено посредством непрямого измерения связывания авидина или стрептавидина. Примеры подходящих флуоресцентных материалов включают умбеллиферон, флуоресцеин, флуоресцеин изотиоцианат, родамин, дихлортриазиниламин флуоресцеин, дансилхлорид или фикоэритрин; пример люминесцентного материала включает люминол; и примеры биолюминесцентных материалов включают люциферазу, люциферин и экворин.

Меченную молекулу антитела можно использовать, например, в диагностических целях и/или экспериментально в ряде контекстов, в том числе (i) для выделения заданного антигена стандартными способами, такими как аффинная хроматография или иммунопреципитация; (ii) для обнаружения заданного антигена (например, в клеточном лизате или супернатанте клеток) для оценки величины и профиля экспрессии белка; (iii) для мониторинга уровней белка в ткани в качестве части процедуры клинического тестирования, например для определения эффективности данного режима лечения.

Молекула антитела может быть конъюгирована с другой молекулярной структурой, как правило, меткой или терапевтическим (например, иммуномодулирующим, иммуностимулирующим, цитотоксическим или цитостатическим) средством или частью. В диагностических или терапевтических применениях можно использовать радиоактивные изотопы. Радиоактивные изотопы, которые могут быть связаны с антителами против ТИМ-3, включают, но не ограничиваются ими, α -, β - или γ -излучатели или β - и γ -излучатели. Такие радиоактивные изотопы включают, но не ограничиваются ими, йод (^{131}I или ^{125}I), иттрий (^{90}Y), лютеций (^{177}Lu), актиний (^{225}Ac), празеодимий, астат (^{211}At), рений (^{186}Re), висмут (^{212}Bi или ^{213}Bi), индий (^{111}In), технеций (^{99m}Tc), фосфор (^{32}P), родий (^{188}Rh), серу (^{35}S), углерод (^{14}C), тритий (^3H), хром (^{51}Cr), хлор (^{36}Cl), кобальт (^{57}Co или ^{58}Co), железо (^{59}Fe), селен (^{75}Se) или галлий (^{67}Ga). Радиоизотопы, пригодные в качестве лекарственных средств, включают иттрий (^{90}Y), лютеций (^{177}Lu), актиний (^{225}Ac), празеодимий, астат (^{211}At), рений (^{186}Re), висмут (^{212}Bi или ^{213}Bi) и родий (^{188}Rh). Радиоизотопы, пригодные в качестве меток, например, для применения в диагностике, включают йод (^{131}I или ^{125}I), индий (^{111}In), технеций (^{99m}Tc), фосфор (^{32}P), углерод (^{14}C) и тритий (^3H) или один или несколько терапевтических изотопов, приведенных выше.

Настоящее изобретение относится к радиоактивно меченым молекулам антител и к способам их мечения. В некоторых вариантах осуществления раскрывается способ мечения молекулы антитела. Способ включает приведение в контакт молекулы антитела с хелатирующим агентом, тем самым получая конъюгированное антитело. Конъюгированное антитело подвергают радиоактивному мечению радиоизотопом, например ^{111}In индием, ^{90}Y иттрием и ^{177}Lu лютецием, тем самым получая меченную молекулу антитела.

Как рассмотрено выше, молекула антитела может быть конъюгирована с лекарственным средством. Терапевтически активные радиоизотопы уже упоминались. Примеры других лекарственных средств включают таксол, цитохалазин В, грамицидин D, бромид этидия, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, доксорубицин, даунорубицин, дигидрокси антрацин дион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, татракаин,

лидокаин, пропранолол, пурамицин, майтанзиноиды, например майтанзинол (см., патент США № 5208020), СС-1065 (см. патент США № 5475092, 5585499, 5846545) и их аналоги или гомологи. Лекарственные средства включают, но не ограничиваются ими, антиметаболиты (например, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацил декарбазин), алкилирующие средства (например, мехлорэтамин, тиотепа, хлорамбуцил, СС-1065, мелфалан, кармустин (BSNU) и ломустин (CCNU), циклофосфамид, бусульфан, дибромманнит, стрептозотоцин, митомицин С и цис-дихлордиаминплатина (II) ((DDP) цисплатин), антрациклины (например, даунорубин (прежде дауномицин) и доксорубин), антибиотики (например, дактиномицин (прежде актиномицин), блеомицин, митрамицин и антрамицин (АМС)) и антимитотические средства (например, винкристин, винбластин, таксол и майтанзиноиды).

В некоторых аспектах, настоящее изобретение относится к способу предоставления связывающей мишень молекулы, которая специфически связывается с рецептором Т1М-3. Например, связывающая мишень молекула представляет собой молекулу антитела. Способ включает: предоставление белка-мишени, который содержит по меньшей мере часть не являющегося человеческого белка, причем часть является гомологичной (по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 87, 90, 92, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична) соответствующему белку-мишени человека, но отличается по меньшей мере на одну аминокислоту (например, по меньшей мере на одну, две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять аминокислот); получение молекулы антитела, которая специфически связывается с антигеном; и оценку эффективности связывающего соединения в отношении модулирования активности белка-мишени. Кроме того, способ может включать введение связывающегося соединения (например, молекулы антитела) или производного (например, гуманизованная молекула антитела) человеку.

В определенных вариантах осуществления молекула антитела представляет собой мультиспецифическую (например, биспецифическую или триспецифическую) молекулу антитела. Протоколы получения биспецифических или гетеродимерных молекул антител известны в данной области; включая, но не ограничиваясь ими, например, подход "выступ в полости", описанный, например, в US 5731168; образование пар Fc посредством электростатического направленного взаимодействия, как описано, например, в WO 09/089004, WO 06/106905 и WO 2010/129304; образование гетеродимеров сконструированных доменов с обменом цепями (SEED), как описано, например, в WO 07/110205; обмен Fab-плечами, как описано, например, в WO 08/119353, WO 2011/131746 и WO 2013/060867; двойной конъюгат антитела, например, посредством сшивания с получением биспецифической структуры с использованием гетеробифункционального реагента, имеющего амин-реактивную группу и сульфгидрил-реактивную группу, как описано, например, в US 4433059; биспецифические детерминанты антител, полученные посредством рекомбинации половинных антител (пары тяжелая-легкая цепь или Fab) из различных антител посредством цикла восстановления и окисления дисульфидных связей между двумя тяжелыми цепями, как описано, например, в US 4444878; трифункциональные антитела, например, три Fab'-фрагмента, сшитые через сульфгидрильные реакционноспособные группы, как описано, например, в US5273743; биосинтетические связывающие белки, например пару scFv, сшитых через C-концевые хвостовые части, предпочтительно через дисульфид- или амин-реактивное химическое сшивание, как описано, например, в US5534254; бифункциональные антитела, например Fab-фрагменты с различной специфичностью связывания, димеризованные через лейциновые молнии (например, c-fos и c-jun), которые имеют замененный константный домен, как описано, например, в US5582996; биспецифические и олигоспецифические моно- и олиговалентные рецепторы, например области VH-CH1 двух антител (двух Fab-фрагментов), связанные через полипептидный спейсер между областью CH1 одного антитела и областью VH другого антитела, как правило, со связанными с ними легкими цепями, как описано, например, в US5591828; биспецифические конъюгаты ДНК-антитело, например сшивание антител или Fab-фрагментов через двухцепочечный фрагмент ДНК, как описано, например, в US5635602; биспецифические слитые белки, например экспрессирующая конструкция, содержащая две scFv с гидрофильным спиралевидным пептидным линкером между ними и полной константной областью, как описано, например, в US5637481; мультивалентные или мультиспецифические связывающие белки, например димер полипептидов, имеющих первый домен со связывающей областью переменной области тяжелой цепи Ig и второй домен со связывающей областью переменной области легкой цепи Ig, обычно называемый диантителами (также предусматриваются структуры более высокого порядка, создающие биспецифические, триспецифические или тетраспецифические молекулы, как описано, например, в US5837242; конструкции миниантител со сшитыми цепями VL и VH, дополнительно связанными через пептидные спейсеры с шарнирной областью и областью CH3 антитела, которые могут димеризоваться с образованием биспецифических/поливалентных молекул, как описано, например, в US5837821; VH- и VL-домены, связанные коротким пептидным линкером (например, 5 или 10 аминокислот) или совсем без линкера в любой ориентации, которые могут образовывать димеры с образованием биспецифических диантител; тримеры и тетрамеры, как описано, например, в US5844094; нить VH-доменов (или VL-доменов в представителях семейств), связанных пептидными связями с подающимися сшиванию группами на C-конце, далее связанных с VL-доменами с образованием серии FV (или scFv), как описано, например, в US5864019; и одноцепочечные связывающие полипептиды как с VH-, так и с VL-доменом, связанными через пептидный линкер, которые комбинируют в поливалентные структуры через нековалентное или химическое сшива-

ние с образованием, например, гомобивалентных, гетеробивалентных, тривалентных и тетравалентных структур с использованием формата как scFV, так и диантител, как описано, например, в US5869620. Дополнительные иллюстративные мультиспецифические и биспецифические молекулы и способы их получения представлены, например, в US5910573, US5932448, US5959083, US5989830, US6005079, US6239259, US6294353, US6333396, US6476198, US6511663, US6670453, US6743896, US6809185, US6833441, US7129330, US7183076, US7521056, US7527787, US7534866, US7612181, US2002004587A1, US2002076406A1, US2002103345A1, US2003207346A1, US2003211078A1, US2004219643A1, US2004220388A1, US2004242847A1, US2005003403A1, US2005004352A1, US2005069552A1, US2005079170A1, US2005100543A1, US2005136049A1, US2005136051A1, US2005163782A1, US2005266425A1, US2006083747A1, US2006120960A1, US2006204493A1, US2006263367A1, US2007004909A1, US2007087381A1, US2007128150A1, US2007141049A1, US2007154901A1, US2007274985A1, US2008050370A1, US2008069820A1, US2008152645A1, US2008171855A1, US2008241884A1, US2008254512A1, US2008260738A1, US2009130106A1, US2009148905A1, US2009155275A1, US2009162359A1, US2009162360A1, US2009175851A1, US2009175867A1, US2009232811A1, US2009234105A1, US2009263392A1, US2009274649A1, EP346087A2, WO0006605A2, WO02072635A2, WO04081051A1, WO06020258A2, WO2007044887A2, WO2007095338A2, WO2007137760A2, WO2008119353A1, WO2009021754A2, WO2009068630A1, WO9103493A1, WO9323537A1, WO9409131A1, WO9412625A2, WO9509917A1, WO9637621A2, WO9964460A1. Содержание приведенных выше заявок включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме.

В других вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 (например, моноспецифическая, биспецифическая или мультиспецифическая молекула антитела) ковалентно связана, например слита, с другим партнером, например белком, например, одним, двумя или более цитокинами, например, в качестве слитой молекулы, например, слитого белка. В других вариантах осуществления слитая молекула содержит один или несколько белков, например один, два или более цитокинов. В одном варианте осуществления цитокин представляет собой интерлейкин (IL), выбранный из одного, двух, трех или более из IL-1, IL-2, IL-12, IL-15 или IL-21. В одном варианте осуществления биспецифическая молекула антитела имеет первую специфичность связывания с первой мишенью (например, с TIM-3), вторую специфичность связывания со второй мишенью (например, LAG-3 или PD-1) и необязательно связана с доменом интерлейкина (например, IL-12), например, полноразмерным IL-12 или его частью. В других вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 слита с другим белком, например одним, двумя или более цитокинами, например, в качестве слитой молекулы. В других вариантах осуществления слитая молекула содержит один или несколько белков, например один, два или более цитокинов. В одном варианте осуществления цитокин представляет собой интерлейкин (IL), выбранный из одного, двух, трех или более из IL-1, IL-2, IL-12, IL-15 или IL-21.

"Слитый белок" и "слитый полипептид" относятся к полипептиду, имеющему по меньшей мере две части, ковалентно связанных вместе, где каждая из частей представляет собой полипептид, имеющий отличающееся свойство. Свойство может представлять собой биологическое свойство, такое как активность *in vitro* или *in vivo*. Свойство также может представлять собой простое химическое или физическое свойство, такое как связывание с молекулой-мишенью, катализ реакции и т.д. Две части могут быть связаны прямо одной пептидной связью или через пептидный линкер, однако, находятся в одной рамке считывания друг с другом.

Иллюстративные молекулы антител против TIM-3

В определенных вариантах осуществления антитело против TIM-3 содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 10 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 25 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 24 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO:

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител выбраны из Fab, F(ab')₂, Fv или одноцепочечного Fv-фрагмента (scFv).

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат константную область тяжелой цепи, выбранную из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител содержат константную область легкой цепи, выбранную из константных областей легкой цепи каппа и лямбда.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит CDR2 VH-области SEQ ID NO: 1 с использованием определений CDR согласно Kabat или Chothia. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит CDR2 и одну или обе из CDR1 и CDR3 VH-области SEQ ID NO: 1 с использованием определений CDR согласно Kabat или Chothia. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит CDR2 VH-области SEQ ID NO: 1 в комбинации с другими 1, 2, 3, 4 или 5 (например, в совокупности, всеми) CDR, встречающимися в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2, с использованием определений CDR согласно Kabat или Chothia. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит VHCDR2 SEQ ID NO: 4. Например, молекула антитела против TIM-3 может содержать VHCDR2 SEQ ID NO: 4 в комбинации с одной или обеими из VHCDR1 SEQ ID NO: 3 и VHCDR3 SEQ ID NO: 5. В качестве другого примера, молекула антитела против TIM-3 может содержать VHCDR2 SEQ ID NO: 4 в комбинации с другими 1, 2, 3, 4 или 5 (например, в совокупности, всеми) CDR, выбранными из SEQ ID NO: 3, 5, 6, 7 и 8.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит CDR3 VL-области SEQ ID NO: 2 с использованием определений CDR согласно Kabat или Chothia. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит CDR3 и одну или обе из CDR1 и CDR2 области VL SEQ ID NO: 2 с использованием определений CDR согласно Kabat или Chothia. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит CDR3 VL-области SEQ ID NO: 2 в комбинации с другими 1, 2, 3, 4 или 5 (например, в совокупности, всеми) CDR, встречающимися в SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2, с использованием определений CDR согласно Kabat of Chothia. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит VLCDR3 SEQ ID NO: 8. Например, молекула антитела против TIM-3 может содержать VLCDR3 SEQ ID NO: 8 в комбинации с одной или обеими из VHCDR1 SEQ ID NO: 6 и VHCDR2 SEQ ID NO: 7. В качестве следующего примера, молекула антитела против TIM-3 может содержать VLCDR3 SEQ ID NO: 8 в комбинации с другими 1, 2, 3, 4 или 5 (например, в совокупности, всеми) CDR, выбранными из SEQ ID NO: 3-7.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит CDR2 VH-области SEQ ID NO: 1 и CDR3 VL-области SEQ ID NO: 2, необязательно в комбинации с дополнительными 1, 2, 3 или 4 (например, в совокупности, всеми) CDR, встречающимися в SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2, с использованием определений CDR согласно Kabat или Chothia. В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит VHCDR2 SEQ ID NO: 4 и VLCDR3 SEQ ID NO: 8, необязательно в комбинации с дополнительными 1, 2, 3 или 4 (например, в совокупности, всеми) CDR, выбранными из SEQ ID NO: 3, 5, 6 или 7.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит константную область тяжелой цепи, константную область легкой цепи, переменные области тяжелой и легкой цепей, приведенные в табл. 1-4 (например, SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2). В определенных вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит константную область тяжелой цепи, константную область легкой цепи и 1, 2, 3, 4, 5 или 6 (например, все) CDR, приведенные в табл. 1-4.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит последовательность всей или части тяжелой цепи SEQ ID NO: 1. Например, в некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит аминокислоты 1-98, 1-107 или 1-118 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит аминокислоты 1-98 SEQ ID NO: 1, область hCDR3 (например, SEQ ID NO: 5 или последовательность, по существу идентичная ей) и область

VHFW4 (например, область VHFW4 человека, гомологичная область последовательностей D или J человека, аминокислоты 108-118 SEQ ID NO: 1, или последовательность, по существу идентичная ей). В некоторых вариантах осуществления область VHFW4 имеет не более 1 или 2 положений неидентичности относительно аминокислот 108-118 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления область VHFW4 имеет не более 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 положений неидентичности относительно аминокислот 108-118 SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах осуществления область hCDR3 имеет не более 1 или 2 положений неидентичности относительно SEQ ID NO: 5.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител способны связываться с TIM-3 человека с константой диссоциации (K_D) менее 0,5 нМ.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 способна независимо связываться с TIM-3 человека и TIM-3 яванского макака с высокой аффинностью. В некоторых вариантах осуществления высокая аффинность относится к K_D менее 5, 2, 1, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 или 0,1 нМ, например приблизительно от 0,3 до 0,01 нМ, например приблизительно от 0,2 до 0,05 нМ, например, при измерении способом Вiasore.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител связываются с TIM-3 яванского макака с K_D менее 10, 5, 4, 3, 2 или 1 нМ, например, при измерении с использованием способа Вiasore, FACS-анализа или ELISA.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител связываются с TIM-3 человека с K_D менее 5, 2, 1, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 или 0,1 нМ, например, при измерении с использованием способа Вiasore, FACS-анализа или ELISA.

В вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител не связываются с TIM-3 мыши.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела связывается с TIM-3 млекопитающего, например человека. Например, молекула антитела специфически связывается с эпитопом, например линейным или конформационным эпитопом (например, эпитоп, как описано в настоящем описании) на TIM-3. В некоторых вариантах осуществления эпитоп представляет собой по меньшей мере часть домена IgV TIM-3 человека или яванского макака. В некоторых аспектах является преимущественной идентификация антитела, которое связывается с высокой аффинностью с гомологами представляющего интерес белка из человека и яванского макака. Эта желаемая перекрестная реактивность позволяет исследование одного и того же антитела (или двух антител с одинаковыми CDR или вариабельными областями) в модели на животных, а затем введение пациентам-людям в качестве терапевтического средства.

В определенных вариантах осуществления вышеуказанные молекулы антител не реагируют перекрестно с TIM-3 мыши. В определенных вариантах осуществления вышеуказанные молекулы антител являются менее перекрестно реагирующими с TIM-3 крысы. Например, перекрестную реактивность можно измерять способом Вiasore или с помощью анализа связывания с использованием клеток, которые экспрессируют TIM-3 (например, экспрессирующие TIM-3 клетки человека 300.19). В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител связывают внеклеточный Ig-подобный домен (например, IgV-домен) TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител против TIM-3 связываются с одним или несколькими остатками из: двух остатков, соседних с N-концом А-цепи, петли BC, петли CC', F-цепи, петли FG и G-цепи TIM-3, или одним или несколькими (например, двумя, пятью, десятью, пятнадцатью, двадцатью, двадцатью пятью, тридцатью, тридцатью пятью или всеми) остатками из двух или более из: двух остатков, соседних N-концом А-цепи, петли BC, петли CC', F-цепи, петли FG или G-цепи TIM-3. F-цепь TIM-3 содержит остатки с G106 по I112; G-цепь TIM-3 содержит остатки с E121 по K130; петля FG TIM-3 содержит остатки между F-цепью и G-цепью, например, включающие остатки с Q113 по D120; петля BC TIM-3 содержит остатки между B-цепью и C-цепью, например, включающие остатки с R37 по P50; два остатка, соседних с N-концом А-цепи, включают остатки V24 и E25; петля CC' содержит остатки между C-цепью и C'-цепью, например, включающие остатки с G56 по N65. В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител против TIM-3 связываются с одним или несколькими остатками из: А-цепи, петли EF, С-цепи, петли C'C'' или C''-цепи. А-цепь содержит остатки с Y26 по E29; петля EF содержит остатки между E-цепью и F-цепью, например, включающие остатки с E98 по S105; С-цепь содержит остатки с V51 по K55; петля C'C'' содержит остатки между C'-цепью и C''-цепью, например, включающие остатки с D71 по D74; и C''-цепь содержит остатки с V75 по W78. Нумерация остатков TIM-3 описана, например, на фиг. 18. В одном варианте осуществления молекулы антител против TIM-3 связываются с одним или несколькими (например, двумя, пятью, десятью, пятнадцатью, двадцатью, двадцатью пятью, тридцатью, тридцатью пятью или всеми) остатками в F-цепи, G-цепи и CC'-петле TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител против TIM-3 снижают или ингибируют проникновение через плазматическую мембрану или PtdSer-зависимое проникновение через мембрану TIM-3. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител против TIM-3 снижают или ингибируют связывание с лигандом TIM-3 PtdSer. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител против TIM-3 снижают или ингибируют связывание с лигандом TIM-3 HMGB1. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител про-

тив TIM-3 снижают или ингибируют связывание с лигандом TIM-3 CEACAM-1. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител против TIM-3 снижают или ингибируют связывание с лигандом TIM-3 семафорином-4А. В некоторых вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител против TIM-3 не снижают или не ингибируют связывание с лигандом TIM-3 галектином-9.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с поверхностью TIM-3 (например, одним, двумя, тремя, пятью, восемью, десятью, пятнадцатью или более непрерывными или прерывающимися (например, несмежными) аминокислотными остатками, выбранными из Val24, Glu25, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126 и/или Leu127).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с поверхностью TIM-3 (например, одним, двумя, тремя, пятью, восемью, десятью, пятнадцатью, двадцатью, двадцатью одним, двадцатью пятью или более непрерывными или прерывающимися (например, несмежными) аминокислотными остатками, выбранными из Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 и/или Val128) например, как подробно показано в табл. 13.

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с поверхностью TIM-3 (например, одним, двумя, тремя, пятью, восемью, десятью, пятнадцатью, двадцатью, двадцатью одним, двадцатью пятью или более непрерывными или прерывающимися (например, несмежными) аминокислотными остатками, выбранными из Glu23, Val24, Glu25, Tyr26, Thr41, Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49, Pro50, Val51, Cys52, Trp53, Gly54, Lys55, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126 и/или Leu127).

В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с поверхностью TIM-3 (например, одним, двумя, тремя, пятью, восемью, десятью, пятнадцатью, двадцатью, двадцатью одним, двадцатью пятью или более непрерывными или прерывающимися (например, несмежными) аминокислотными остатками, выбранными из Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49, Pro50, Val51, Cys52, Trp53, Gly54, Lys55, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 и/или Val128).

В других вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 конкурирует с CEACAM-1 за связывание с TIM-3. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с одним, двумя или более (всеми) из C58, N119 и K122 TIM-3, например, вытесняет или конкурирует с CEACAM-1 за связывание с этими остатками. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 снижает или блокирует образование водородной связи между K122 TIM-3 и N42 CEACAM-1. Что касается CEACAM-1, было показано, что CEACAM-1 является лигандом для TIM-3 и требуется для его способности опосредовать ингибирование Т-клеток, что может играть важную роль в регуляции аутоиммунитета и противоопухолевом иммунитете (Huang, et al. (2014) Nature doi:10.1038/nature13848).

Ингибирование взаимодействия между TIM-3 и CEACAM-1 можно использовать с другими иммуномодуляторами, описанными в настоящем описании (например, ингибитор против PD-1), для усиления иммунного ответа против злокачественной опухоли.

В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, с PtdSer-связывающей петлей TIM-3, например, IgV-доменом TIM-3 человека. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 взаимодействует, например связывается, по меньшей мере с двумя PtdSer-связывающими петлями TIM-3, например петлей FG и петлей CC' TIM-3 (например, участок связывания зависящего от ионов металла лиганда (MILIBS)). Например, карбоксильная группа PtdSer может связываться с петлей CC' TIM-3 и аминогруппа PtdSer может связываться с петлей FG TIM-3. В одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 снижает или препятствует опосредуемому PtdSer проникновению TIM-3 через мембрану. Таким образом, молекула антитела против TIM-3 может снижать привлечение экспрессирующих TIM-3 клеток и/или проникновение в мембрану апоптотических клеток (которые могут экспонировать PtdSer) для поглощения.

В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 конкурирует с HMGB1 за связывание с TIM-3. Например, она снижает связывание HMGB1 с остатком 62 TIM-3 (Q в TIM-3 мыши, E в TIM-3 человека). Что касается HMGB1, было сообщено, что он взаимодействует с TIM-3, помогая ассоциированным с опухолью дендритным клеткам подавлять опосредуемый нуклеиновой кислотой врожденный иммунный ответ (Chiba et al., (2012) Nat. Immunol. 13(9): 832-842). Таким образом, молекула антитела против TIM-3 может усиливать опосредуемый нуклеиновой кислотой врожденный иммунный ответ.

В другом варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 не конкурирует или не снижает связывание лиганда галектина-9 (Gal-9) с TIM-3.

В вариантах осуществления молекула антитела против TIM-3 представляет собой моноспецифическую молекулу антитела или биспецифическую молекулу антитела. В вариантах осуществления молеку-

ла антитела обладает первой специфичностью связывания в отношении Т1М-3 и второй специфичностью связывания в отношении PD-1, LAG-3, CEACAM (например, CEACAM-1 и/или CEACAM-5), PD-L1 или PD-L2. В варианте осуществления молекула антитела содержит антигенсвязывающий фрагмент антитела, например половинное антитело или антигенсвязывающий фрагмент половинного антитела.

В других вариантах осуществления вышеупомянутые молекулы антител способны усиливать ответ антигенспецифических Т-клеток.

В рамках настоящего изобретения предусматривается выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая вышеупомянутую молекулу антитела, ее векторы и клетки-хозяева. Молекула нуклеиновой кислоты включает, но не ограничивается ими, РНК, геномную ДНК и кДНК.

В вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота кодирует переменную область тяжелой цепи, или переменную область легкой цепи, или обе из них, любой из вышеупомянутых молекул антител.

В других вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую переменный домен тяжелой цепи, где нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 11, 17, 29, 33, 37, 45, 49, 53, 61, 69, 73, 77, 81, 85, 93, 101, 115 или 120.

В других вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую переменный домен тяжелой цепи, где нуклеотидная последовательность содержит любую из SEQ ID NO: 11, 17, 27, 33, 37, 45, 49, 53, 61, 69, 73, 77, 81, 85, 93, 101, 115 или 120.

В других вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, где нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 19, 29, 35, 39, 47, 51, 55, 63, 71, 75, 79, 83, 87, 95, 103, 117 или 122.

В других вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, где нуклеотидная последовательность содержит любую из SEQ ID NO: 19, 29, 35, 39, 47, 51, 55, 63, 71, 75, 79, 83, 87, 95, 103, 117 или 122.

В других вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую переменный домен легкой цепи, где нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 15, 21, 41, 57, 65, 89, 97, 105, 118, 123, 125 или 127.

В других вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую переменный домен легкой цепи, где нуклеотидная последовательность содержит любую из SEQ ID NO: 15, 21, 41, 57, 65, 89, 97, 105, 118, 123, 125 или 127.

В других вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь, где нуклеотидная последовательность по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 23, 43, 59, 67, 91, 99, 107, 119, 124, 126 или 128.

В других вариантах осуществления выделенная нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь, где нуклеотидная последовательность содержит любую из SEQ ID NO: 23, 43, 59, 67, 91, 99, 107, 119, 124, 126 или 128.

Фармацевтические композиции и наборы

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к композициям, например фармацевтически приемлемым композициям, которые включают молекулу антитела против Т1М-3, описанную в настоящем описании, вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Как используют в рамках изобретения, "фармацевтически приемлемый носитель" включает любые и все растворители, дисперсионные среды, обеспечивающие изотоничность и замедляющие всасывание средства, и т.п., которые являются физиологически совместимыми. Носитель может быть пригодным для внутривенного, внутримышечного, подкожного, парентерального, внутриспинального или эпидермального введения (например, посредством инъекции или инфузии).

Композиции, описанные в настоящем описании, могут иметь различные формы. Они включают, например, жидкие, полутвердые и твердые дозированные формы, такие как жидкие растворы (например, инъекционные и инфузионные растворы), дисперсии или суспензии, липосомы и суппозитории. Подходящая форма зависит от предполагаемого пути введения и терапевтического применения. Типичные подходящие композиции имеют форму инъекционных или инфузионных растворов. Одним подходящим способом введения является парентеральное (например, внутривенное, подкожное, внутривентральное, внутримышечное). В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела вводят посредством внутривенной инфузии или инъекции. В определенных вариантах осуществления антитело вводят посредством внутримышечной или подкожной инъекции.

Выражения "парентеральное введение" и "введенное парентерально", как используют в рамках изобретения, означают пути введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно посредством инъекции, и включают, но не ограничиваются ими, внутривенную, внутримышечную, внутриаортальную, интратекальную, интракапсулярную, внутриглазничную, внутрисердечную, внутрикожную,

внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, подкапсулярную, субарахноидальную, внутривозвоночную, эпидуральную и внутригрудинную инъекцию и инфузию.

Терапевтические композиции, как правило, должны быть стерильными и стабильными в условиях изготовления и хранения. Композиция может быть изготовлена в качестве раствора, микроэмульсии, дисперсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации антитела. Стерильные инъекционные растворы можно получать путем включения активного соединения (т.е. антитела или части антитела) в требуемом количестве в соответствующий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости, с последующей стерилизацией фильтрованием. Как правило, дисперсии получают включением активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие требуемые ингредиенты из перечисленных выше ингредиентов. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекционных растворов предпочтительными способами изготовления являются вакуумная сушка и сублимационная сушка, которые обеспечивают порошок активного ингредиента с любым дополнительным требуемым ингредиентом из ранее стерилизованного фильтрацией его раствора. Надлежащую текучесть раствора можно поддерживать, например, с использованием материалов покрытий, таких как лецитин, посредством поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и с использованием поверхностно-активных веществ. Пролонгированного всасывания инъекционной композиции можно достигать путем включения в композицию средства, которое замедляет всасывание, например моностеаратов и желатина.

Молекулы антител можно вводить различными способами. В данной области известно несколько таких способов, и для многих терапевтических применений подходящим путем/способом введения является внутривенная инъекция или инфузия. В одном варианте осуществления молекулы антител можно вводить посредством внутривенной инфузии при скорости более 20 мг/мин, например 20-40 мг/мин, и предпочтительно больше или равно 40 мг/мин для достижения дозы приблизительно от 35 до 440 мг/м², предпочтительно приблизительно от 70 до 310 мг/м² и более предпочтительно приблизительно от 110 до 130 мг/м². В другом варианте осуществления молекулы антител можно вводить посредством внутривенной инфузии со скоростью менее 10 мг/мин; предпочтительно меньше или равно 5 мг/мин для достижения дозы приблизительно от 1 до 100 мг/м², предпочтительно приблизительно от 5 до 50 мг/м², приблизительно от 7 до 25 мг/м² и более предпочтительно приблизительно 10 мг/м². Как будет понятно специалисту в данной области, путь и/или способ введения будет варьироваться в зависимости от желаемых результатов. В определенных вариантах осуществления активное соединение можно составлять с носителем, который защищает соединение от быстрого высвобождения, таким как состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты, трансдермальные пластыри и микроинкапсулированные системы доставки. Можно использовать биodeградируемые биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, сложные полиортоэфирные и полимолочная кислота. Множество способов получения таких составов запатентовано или общеизвестно специалистам в данной области. См., например, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела можно вводить перорально, например, с инертным разбавителем или усвояемым пищевым носителем. Молекула антитела (и другие ингредиенты, если желательно) также может быть заключена в твердую или мягкую желатиновую капсулу, спрессована в таблетки или включена непосредственно в рацион индивидуума. Для перорального терапевтического введения молекула антитела может быть включена с эксципиентами и использована в форме проглатываемых таблеток, буккальных таблеток, лепешек, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, вафель и т.п. Для введения молекулы антитела путем, отличным от парентерального введения, может быть необходимым покрытие соединения или совместное введение соединения с материалом для предупреждения его инактивации. Терапевтические композиции также можно вводить с использованием медицинских устройств, и в данной области известно несколько таких устройств.

Режимы дозирования корректируют для обеспечения желаемого ответа (например, терапевтического ответа). Например, можно вводить однократный болюс, можно вводить несколько разделенных доз в течение времени или дозу можно пропорционально снижать или повышать, если это необходимо для терапевтического случая. Особенно предпочтительным является составление парентеральных композиций в единичной дозированной форме для простоты введения и единообразия дозировки. Единичная дозированная форма, как используют в рамках настоящего изобретения, относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве однократных дозировок для индивидуумов, подлежащих лечению; причем каждая единица содержит заданное количество активного соединения, вычисленное для достижения требуемого терапевтического эффекта, вместе с требуемым фармацевтическим носителем. Характеристики единичных дозированных форм по настоящему изобретению определяются и прямо зависят от (а) уникальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, подлежащего достижению, и (б) ограничений, свойственных данной области, в отношении составления активного соединения для лечения чувствительности индивидуумов.

Иллюстративный неограничивающий диапазон для терапевтически или профилактически эффективного количества молекулы антитела составляет 0,1-30 мг/кг, более предпочтительно 1-25 мг/кг. Дози-

ровки и терапевтические режимы молекулы антитела против TIM-3 могут быть определены квалифицированным специалистом. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят посредством инъекции (например, подкожно или внутривенно) в дозе приблизительно от 1 до 40 мг/кг, например от 1 до 30 мг/кг, например приблизительно от 5 до 25 мг/кг, приблизительно от 10 до 20 мг/кг, приблизительно от 1 до 5 мг/кг, от 1 до 10 мг/кг, от 5 до 15 мг/кг, от 10 до 20 мг/кг, от 15 до 25 мг/кг или приблизительно 3 мг/кг. Схема дозирования может варьироваться, например, от одного раза в неделю до одного раза в 2, 3 или 4 недели. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в дозе приблизительно от 10 до 20 мг/кг раз в две недели. Молекулу антитела можно вводить посредством внутривенной инфузии со скоростью более 20 мг/мин, например 20-40 мг/мин и предпочтительно больше или равно 40 мг/мин для достижения дозы приблизительно от 35 до 440 мг/м², предпочтительно приблизительно от 70 до 310 мг/м² и более предпочтительно приблизительно от 110 до 130 мг/м². В вариантах осуществления скорость инфузии приблизительно от 110 до 130 мг/м² обеспечивает уровень приблизительно 3 мг/кг. В других вариантах осуществления молекулу антитела можно вводить посредством внутривенной инфузии со скоростью менее 10 мг/мин, например меньше или равно 5 мг/мин, для достижения дозы приблизительно от 1 до 100 мг/м², например приблизительно от 5 до 50 мг/м², приблизительно от 7 до 25 мг/м² или приблизительно 10 мг/м². В некоторых вариантах осуществления антитело инфузируют на протяжении периода приблизительно 30 мин. Следует отметить, что величины дозирования могут варьироваться в зависимости от типа и тяжести состояния, подлежащего смягчению. Кроме того, следует понимать, что для любого конкретного индивидуума конкретные режимы дозирования следует корректировать с течением времени в соответствии с потребностями индивидуума и профессиональным мнением лица, осуществляющего введение или контролирующего введение композиций, и что диапазоны дозирования, описанные в настоящем описании, являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения объема или практики заявленной композиции.

Фармацевтические композиции в рамках настоящего изобретения включают "терапевтически эффективное количество" или "профилактически эффективное количество" молекулы антитела. "Терапевтически эффективное количество" относится к количеству, эффективному, в необходимых дозировках и в течение необходимых периодов времени, для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество модифицированного антитела или фрагмента антитела может варьироваться в зависимости от таких факторов, как заболевание, возраст, пол и масса тела индивидуума и способность антитела или части антитела индуцировать желаемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также представляет собой количество, в котором любые токсические или вредоносные эффекты молекулы антитела перевешиваются терапевтически благоприятными эффектами. "Терапевтически эффективная дозировка" предпочтительно ингибирует поддающийся измерению параметр по меньшей мере приблизительно на 20%, более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 40%, еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 60% и еще более предпочтительно по меньшей мере приблизительно на 80% относительно не подвергнутого лечению индивидуумов. Поддающимся измерению параметром может быть, например, скорость роста опухоли или скорость роста патогена. Способность соединения ингибировать поддающийся измерению параметр можно оценивать в модельной системе на животных, прогнозирующей эффективность при соответствующем заболевании у человека. Альтернативно это свойство композиции можно оценивать путем исследования способности соединения к ингибированию, такому как ингибирование *in vitro*, с использованием анализов, известных квалифицированному специалисту.

"Профилактически эффективное количество" относится к количеству, эффективному, в необходимых дозировках и в течение необходимых периодов времени, для достижения желаемого профилактического результата. Как правило, поскольку профилактическую дозу используют у индивидуумов до или на ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество является меньшим, чем терапевтически эффективное количество.

Также в рамках настоящего изобретения предусматривается набор, содержащий молекулу антитела, описанную в настоящем описании. Набор может включать один или несколько элементов, включающих: инструкции по применению; другие реагенты, например метку, лекарственное средство или средство, пригодное для хелатирования или связывания иным образом антитела с меткой, или лекарственным средством, или радиопротекторной композицией; устройства или другие материалы для подготовки молекулы антитела для введения; фармацевтически приемлемые носители; и устройства или другие материалы для введения индивидууму.

Применение молекул антител против TIM-3

TIM-3 представляет собой соингибиторный белок, экспрессируемый, например, на активированных Т-хелперных 1 (Th1) CD4⁺ и цитотоксических CD8⁺ Т-клетках, которые секретируют IFN- γ . TIM-3 по большей части коэкспрессируется на истощенных PD-1⁺ Т-клетках, как показано в доклинических моделях злокачественной опухоли и вирусного истощения. Совместная блокада этих каскадов может восстанавливать эффекторную функцию Т-клеток (например, секреция IFN- γ , пролиферация) в нескольких моделях, а также в РВМС человека, происходящих из пациентов с метастазирующей меланомой и пациен-

тов с ВИЧ или HCV. TIM-3 также присутствует в большом количестве на природных регуляторных FoxP3+ T-клетках (и FoxP3-отрицательных индуцированных регуляторных клетках), и экспрессия pTreg коррелирует с тяжестью заболевания при NSCLC, печеночно-клеточной карциноме и карциноме яичника. Было показано, что в моделях на мышах TIM-3+ pTreg являются более иммунодепрессивными (секретируют более высокие уровни IL-10 и TGF- β).

Кроме того, TIM-3 может играть важную роль на врожденных иммунных клетках, включая NK-клетки, моноциты/макрофаги и дендритные клетки (DC). TIM-3 конститутивно экспрессируется на макрофагах и DC, и его блокада может усилить секрецию TNF- α из моноцитов человека и увеличить экспрессию NF- κ B в линии дендритных клеток мыши. TIM-3 также может вносить вклад в экспансию супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC). Конститутивная экспрессия TIM-3 на макрофагах ассоциирована с меньшей секрецией IL-12, и подавление активации TIM-3 после TLR может приводить к усилению секреции IL-12 и последующим ответам эффекторных T-клеток.

Молекулы антител, описанные в настоящем описании, имеют диагностическую применимость *in vitro* и *in vivo*, а также терапевтическую и профилактическую применимость. В некоторых вариантах осуществления молекулы антител модулируют (например, усиливают или ингибируют) иммунный ответ у индивидуума посредством связывания TIM-3. Например, эти молекулы можно вводить в клетки в культуре, *in vitro* или *ex vivo*, или индивидууму, например человеку, например, *in vivo*, для модулирования (например, усиления или ингибирования) иммунитета.

Таким образом, в некоторых аспектах изобретение относится к способу модификации иммунного ответа у индивидуума, включающему введение индивидууму молекулы антитела, описанной в настоящем описании, так чтобы происходила модификация иммунного ответа у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления иммунный ответ усиливается, стимулируется или активируется. В определенных вариантах осуществления иммунный ответ ингибируется или подавляется. Например, эти молекулы антител можно вводить в клетки в культуре, например, *in vitro* или *ex vivo*, или индивидууму, например, *in vivo*, для лечения, предупреждения и/или диагностики различных нарушений, таких как злокачественные опухоли, иммунные нарушения и инфекционные заболевания.

Как используют в рамках изобретения, термин "индивидуум" включает человека и не являющихся человеком животных. В некоторых вариантах осуществления индивидуум представляет собой человека, например пациента-человека, имеющего нарушение или состояние, характеризующееся аномальным функционированием TIM-3. Как правило, индивидуум имеет по меньшей мере часть TIM-3, включающую эпитоп TIM-3, которая связывается молекулой антитела, например, достаточно высокий уровень белка и эпитопа, чтобы поддерживать связывание антитела с TIM-3. Термин "не являющиеся человеком животные" включает млекопитающих и не млекопитающих, таких как не являющиеся человеком приматы. В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является человек. В некоторых вариантах осуществления индивидуумом является пациент-человек, нуждающийся в усилении иммунного ответа. Способы и композиции, описанные в настоящем описании, являются пригодными для лечения пациентов-людей, имеющих нарушение, которое можно лечить посредством модулирования (например, усиления или ингибирования) иммунного ответа.

Способы лечения иммунных нарушений.

TIM-3 представляет собой трансмембранный рецептор, экспрессируемый на T-клетках, например CD4+ T-клетках, CD8+ T-клетках, регуляторных T-клетках и дифференцированных Th1-клетках. TIM-3-зависимый транспорт Th1-клеток в ткань-мишень может ингибироваться растворимым TIM-3 (см. US 7470428). Таким образом, модулирование функции TIM-3 может снизить транспорт T-клеток в ткань-мишень, например, у индивидуумов с аутоиммунным заболеванием. TIM-3 может играть важную роль в индукции аутоиммунных заболеваний посредством регуляции активации и/или функции макрофагов. Таким образом, в определенных вариантах осуществления молекулы антител против TIM-3, описанные в настоящем описании, являются пригодными для применения для подавления нежелательного иммунного ответа, например, для лечения аутоиммунных заболеваний.

Более того, как описано в разделе "Примеры" настоящего описания, антитела против TIM-3 могут стимулировать опосредуемое NK-клетками уничтожение клеток-мишеней и могут усиливать секрецию IFN-гамма и пролиферацию CD4+ T-клеток. Таким образом, в определенных вариантах осуществления молекулы антител против TIM-3, описанные в настоящем описании, являются пригодными для применения для стимуляции желательного иммунного ответа, например иммунного ответа против злокачественной клетки или патогена.

Антитела против TIM-3, описанные в настоящем описании, можно использовать для лечения иммунных нарушений, особенно обусловленных T-лимфоцитами нарушений, включая, но не ограничиваясь ими, хронические воспалительные заболевания и нарушения, такие как болезнь Крона, реактивный артрит, включая болезнь Лайма, инсулин-зависимый диабет, орган-специфический аутоиммунитет, включая рассеянный склероз, тиреоидит Хашимото и болезнь Грэйвса, контактный дерматит, псориаз, отторжение трансплантата, реакцию "трансплантат против хозяина", саркоидоз, атопические состояния, такие как астма и аллергия, включая аллергический ринит, желудочно-кишечную аллергию, включая пищевую

аллергию, эозинофилию, конъюнктивит, гломерулярный нефрит (например, IgA-нефропатия), чувствительность к определенным патогенам, таким как гельминты (например, лейшманиоз).

В определенных вариантах осуществления антитело против ТИМ-3 используют для модулирования Т-клеточной функции, например функции CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток, Treg, Th17 и Th1. В некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 вызывает блокаду ТИМ-3 и ее используют для лечения иммунного нарушения, которое не является Th1-зависимым заболеванием (см. Schroll et al., *Am J Pathol* 2010 April; 176(4):1716-1742). В определенных вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 не вызывает блокаду ТИМ-3.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам введения молекулы антитела против ТИМ-3, приводящим к стимуляции или снижению Т-клеточного транспорта в ткань-мишень, стимуляции или ингибированию активации антигенпредставляющих клеток (АПК).

В некоторых вариантах осуществления индивидуум нуждается в лечении аутоиммунного заболевания. Аутоиммунное заболевание включает заболевания, при которых собственные антитела индивидуума реагируют с тканью хозяина или при которых иммунные эффекторные Т-клетки являются аутореактивными в отношении эндогенных собственных пептидов и вызывают разрушение ткани. Таким образом иммунный ответ индуцируется против собственных антигенов индивидуума, называемых аутоантигенами. Аутоиммунные заболевания включают, но не ограничиваются ими, ревматоидный артрит, болезнь Крона, например, детскую болезнь Крона, рассеянный склероз, системную красную волчанку (SLE), аутоиммунный энцефаломиелит, миастению (MG), тиреоидит Хашимото, синдром Гудпасчера, пемфигус (например, пемфигус обыкновенный), болезнь Грэйвса, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, склеродермию с антителами против коллагена, смешанное заболевание соединительной ткани, полимиозит, пернициозную анемию, идиопатическую болезнь Аддисона, ассоциированное с аутоиммунитетом бесплодие, гломерулонефрит (например, серповидный гломерулонефрит, пролиферативный гломерулонефрит), буллезный пемфигOID, синдром Шегрена, резистентность к инсулину, аутоиммунный сахарный диабет (сахарный диабет I типа; инсулин-зависимый сахарный диабет), атеросклероз и болезнь Альцгеймера.

В некоторых аспектах, молекулу антитела против ТИМ-3, описанную в настоящем описании, вводят для лечения нежелательного иммунного ответа на аллерген. Примеры природных аллергенов животных и растений включают белки, специфические для следующих родов: Canine (*Canis familiaris*); *Dermatophagoides* (например, *Dermatophagoides farinae*); Felis (*Felis domesticus*); Ambrosia (*Ambrosia artemisiifolia*); Lolium (например, *Lolium perenne* или *Lolium multiflorum*); *Cryptomeria* (*Cryptomeria japonica*); *Alternaria* (*Alternaria alternata*); Alder; Alnus (*Alnus gultinosa*); Betula (*Betula verrucosa*); Quercus (*Quercus alba*); Olea (*Olea europa*); Artemisia (*Artemisia vulgaris*); Plantago (например, *Plantago lanceolata*); Parietaria (например, *Parietaria officinalis* или *Parietaria judaica*); Blattella (например, *Blattella germanica*); Apis (например, *Apis multiflorum*); Cupressus (например, *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizonica* и *Cupressus macrocarpa*); Juniperus (например, *Juniperus sabinoides*, *Juniperus virginiana*, *Juniperus communis* и *Juniperus ashei*); Thuya (например, *Thuya orientalis*); Chamaecyparis (например, *Chamaecyparis obtusa*); Periplaneta (например, *Periplaneta americana*); Agropyron (например, *Agropyron repens*); Secale (например, *Secale cereale*); Triticum (например, *Triticum aestivum*); Dactylis (например, *Dactylis glomerata*); Festuca (например, *Festuca elatior*); Poa (например, *Poa pratensis* или *Poa compressa*); Avena (например, *Avena sativa*); Holcus (например, *Holcus lanatus*); Anthoxanthum (например, *Anthoxanthum odoratum*); Arrhenatherum (например, *Arrhenatherum elatius*); Agrostis (например, *Agrostis alba*); Phleum (например, *Phleum pratense*); Phalaris (например, *Phalaris arundinacea*); Paspalum (например, *Paspalum notatum*); Sorghum (например, *Sorghum halepensis*) и Bromus (например, *Bromus inermis*).

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 вводят для лечения рассеянного склероза, болезни Крона, сепсиса, SIRS (синдром системного воспалительного ответа) или гломерулонефрита.

Способы лечения злокачественной опухоли.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам введения молекулы антитела против ТИМ-3 для лечения злокачественной опухоли. Без связи с теорией, в некоторых вариантах осуществления молекула антитела против ТИМ-3 стимулирует иммунную систему пациента для распознавания и разрушения злокачественных клеток, тем самым осуществляя лечение злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль, подлежащая лечению, экспрессирует ТИМ-3, и молекула антитела против ТИМ-3 нацелена на злокачественные клетки или клетки в микроокружении опухоли.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к лечению индивидууму *in vivo* с использованием молекулы антитела против ТИМ-3, так чтобы происходило ингибирование роста злокачественных опухолей. Антитело против ТИМ-3 можно использовать отдельно для ингибирования роста злокачественных опухолей. Альтернативно антитело против ТИМ-3 можно использовать в комбинации с одним или несколькими из: стандартного способа лечения злокачественной опухоли (например, для злокачественных или инфекционных нарушений) или другого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, иммуномодулятора (например, активатор костимулирующей молекулы или ингибитор ингибиторной

молекулы); вакцины (например, вакцина против злокачественной опухоли); или других форм клеточной иммунотерапии, как описано ниже.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления изобретение относится к способу ингибирования роста опухолевых клеток у индивидуума, включающему введение индивидууму терапевтически эффективного количества молекулы антитела против ТИМ-3, описанной в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления способы пригодны для лечения злокачественной опухоли *in vivo*. Для достижения антигенспецифического усиления иммунитета молекулу антитела против ТИМ-3 можно вводить вместе с представляющим интерес антигеном. Когда антитела к ТИМ-3 вводят в комбинации с одним или несколькими средствами, комбинацию можно вводить в любом порядке или одновременно.

Типы злокачественной опухоли

В некоторых аспектах предусматривается способ лечения у индивидуума, например, снижения или смягчения, гиперпролиферативного состояния или нарушения (например, злокачественной опухоли), например солидной опухоли, гематологической злокачественной опухоли, опухоли мягких тканей или метастатического очага, у индивидуума. Способ включает введение индивидууму одной или нескольких молекул антител против ТИМ-3, описанных в настоящем описании, отдельно или в комбинации с другими средствами или терапевтическими частями.

Как используют в рамках изобретения, термин "злокачественная опухоль" подразумевает включение всех типов злокачественного роста или онкогенных процессов, метастатических тканей или злокачественно трансформированных клеток, тканей или органов безотносительно гистопатологического типа или степени инвазивности. Примеры злокачественных нарушений включают, но не ограничиваются ими, солидные опухоли, гематологические злокачественные опухоли, опухоли мягких тканей и метастатические очаги. Примеры солидных опухолей включают злокачественные опухоли, например саркомы и карциномы (включая аденокарциномы и плоскоклеточный рак) различных систем органов, такие как опухоли, поражающие печень, легкое, молочную железу, лимфоидные органы, желудочно-кишечный тракт (например, толстый кишечник), мочеполовые пути (например, почки, клетки уротелия), предстательную железу и глотку. Аденокарциномы включают злокачественные опухоли, такие как большинство типов рака толстого кишечника, рак прямой кишки, почечно-клеточную карциному, рак печени, немелкоклеточную карциному легкого, злокачественную опухоль тонкого кишечника и злокачественную опухоль пищевода. Плоскоклеточный рак включает злокачественные опухоли, например, в легком, пищеводе, на коже, в области головы и шеи, полости рта, анальном канале и шейке матки. В одном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой меланому, например меланому развернутой стадии. Метастатические очаги повреждения вышеупомянутых злокачественных опухолей также можно лечить или предупреждать с использованием способов и композиций, описанных в настоящем описании.

Иллюстративные злокачественные опухоли, рост которых ингибируется с использованием молекул антител, описанных в настоящем описании, включают злокачественные опухоли, обычно отвечающие на иммунотерапию. Неограничивающие примеры подходящих для лечения злокачественных опухолей включают меланому (например, метастазирующая злокачественная меланوما), рак почки (например, светлоклеточная карцинома), рак предстательной железы (например, рефрактерная к гормонам аденокарцинома предстательной железы), рак молочной железы, рак толстого кишечника и рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого). Кроме того, с использованием молекул антител, описанных в настоящем описании, можно лечить рефрактерные или рецидивирующие злокачественные опухоли.

Злокачественные опухоли включают, но не ограничиваются ими, базально-клеточную карциному, рак желчных путей; рак мочевого пузыря; рак кости; рак головного мозга и ЦНС; первичную лимфому ЦНС; новообразование центральной нервной системы (ЦНС); рак молочной железы; рак шейки матки; хориокарциному; рак толстой и прямой кишки; злокачественную опухоль соединительной ткани; злокачественную опухоль пищеварительной системы; рак эндометрия; рак пищевода; злокачественную опухоль глаза; рак головы и шеи; рак желудка; интраэпителиальное новообразование; рак почки; рак гортани; лейкоз (включая острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронические или острые лейкозы); рак печени; рак легкого (например, мелкоклеточный и немелкоклеточный); лимфому, включая лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому; лимфоцитарную лимфому; меланому, например кожную или внутриглазную злокачественную меланому; миелому; нейробластому; злокачественную опухоль полости рта (например, губ, языка, ротовой полости и глотки); рак яичника; рак поджелудочной железы; рак предстательной железы; ретинобластому; рабдомиосаркому; рак прямой кишки; злокачественную опухоль дыхательной системы; саркому; рак кожи; рак желудка; рак яичка; рак щитовидной железы; рак тела матки; злокачественную опухоль мочевыводящей системы, гепатокарциному, рак анальной области, карциному фаллопиевых труб, карциному влагалища, карциному наружных женских половых органов, рак тонкого кишечника, рак эндокринной системы, рак паращитовидной железы, рак надпочечника, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, солидные опухоли детского возраста, опухоль позвоночника, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, индуцируемые внешними факторами злокачественные опухоли, вклю-

чая злокачественные опухоли, индуцируемые асбестом, а также другие карциномы и саркомы и комбинации указанных злокачественных опухолей.

В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль, подлежащая лечению молекулами антител, включает, но не ограничивается ими, солидные опухоли, гематологические злокачественные опухоли, опухоли мягких тканей и метастатические очаги. Примеры солидных опухолей включают злокачественные опухоли, например, саркомы, аденокарциномы и карциномы различных систем органов, такие как саркомы, аденокарциномы и карциномы, поражающие легкое, молочную железу, лимфоидные органы, желудочно-кишечный тракт (например, толстый кишечник), половые органы и мочеполовой тракт (например, клетки почки, уротелий, клетки мочевого пузыря), глотку, ЦНС (например, головной мозг, нейрональные или глиальные клетки), кожу (например, меланома) и поджелудочную железу, а также аденокарциномы, которые включают злокачественные опухоли, такие как большинство типов рака толстого кишечника, рак прямой кишки, почечно-клеточная карцинома, рак печени, немелкоклеточная карцинома легкого, рак тонкого кишечника и рак пищевода. Способы и композиции, описанные в настоящем описании, также являются пригодными для лечения метастатических очагов, ассоциированных с вышеупомянутыми злокачественными опухолями.

Без связи с теорией, в некоторых вариантах осуществления пациент более вероятно будет отвечать на лечение иммуномодулятором (необязательно в комбинации с одним или несколькими средствами, как описано в настоящем описании), если пациент имеет злокачественную опухоль, которая на высоком уровне экспрессирует PD-L1, и/или если злокачественная опухоль инфильтрирована противоопухолевыми иммунными клетками, например TIL. Противоопухолевые иммунные клетки могут быть положительными по CD8, PD-L1 и/или IFN- γ ; таким образом, уровни CD8, PD-L1 и/или IFN- γ могут служить в качестве показателя уровней TIL в микроокружении. В определенных вариантах осуществления микроокружение злокачественной опухоли называют тройным положительным по PD-L1/CD8/IFN- γ .

Таким образом, в некоторых аспектах настоящая заявка относится к способам определения того, является ли образец опухоли положительным по одному или нескольким из PD-L1, CD8 и IFN- γ , и, если образец опухоли является положительным по одному или нескольким, например двум или всем трем, из маркеров, тогда введение пациенту терапевтически эффективного количества молекулы антитела против PD-1, необязательно в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами или средствами против злокачественной опухоли, например антителом против TIM3, как описано в настоящем описании.

В следующих показаниях большая доля пациентов являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN- γ : рак легкого (плоскоклеточный); рак легкого (аденокарцинома); рак головы и шеи; рак желудка; NSCLC; HNSCC; рак желудка (например, MSIhi и/или EBV+); CRC (например, MSIhi); рак носоглотки (NPC); рак шейки матки (например, плоскоклеточный); рак щитовидной железы, например, папиллярный рак щитовидной железы; меланома; рак молочной железы TN; и DLBCL (диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома). При раке молочной железы в общем и при раке толстого кишечника в общем умеренная часть пациентов являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN- γ . При следующих показаниях небольшая часть пациентов являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN- γ : ER+ рак молочной железы и рак поджелудочной железы. Эти данные рассмотрены далее в примере 9. Независимо от того, большая или маленькая доля пациентов являются тройными положительными по этим маркерам, скрининг пациентов в отношении этих маркеров позволяет идентифицировать долю пациентов, которая имеет особенно высокую вероятность благоприятного ответа на терапию антителом против PD-1 (например, блокирующее антитело против PD-1), необязательно в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами (например, молекула антитела против TIM-3, описанная в настоящем описании, молекула антитела против LAG-3 или молекула антитела против PD-L1) и/или средствами против злокачественной опухоли, например средствами, приведенными в табл. 6 и описанными в публикациях, приведенных в табл. 6.

В некоторых вариантах осуществления образец классифицируют как тройной положительный по PDL1/CD8/IFN- γ . Этот показатель можно приближенно свести к двум пороговым значениям: классифицируют ли индивидуальную клетку как положительную и классифицируют ли образец в целом как положительный. Во-первых, можно измерять в индивидуальной клетке уровень PD-L1, CD8 и/или IFN- γ . В некоторых вариантах осуществления клетка, которая является положительной по одному или нескольким из этих маркеров, представляет собой клетку, которая имеет более высокий уровень маркера по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной. Например, в некоторых вариантах осуществления высокий уровень PD-L1 в данной клетке представляет собой уровень, превышающий уровень PD-L1 в соответствующей незлокачественной ткани у пациента. В качестве другого примера, в некоторых вариантах осуществления высокий уровень CD8 или IFN- γ в данной клетке представляет собой уровень этого белка, обычно наблюдаемый в TIL. Во-вторых, также можно измерять процент клеток в образце, которые являются положительными по PD-L1, CD8, и/или IFN- γ (не является необходимым, чтобы одна клетка экспрессировала все три маркера). В некоторых вариантах осуществления тройной положительный образец представляет собой образец, который имеет высокий процент клеток, например выше

эталонной величины или выше, чем в контрольном образце, которые являются положительными по этим маркерам.

В других вариантах осуществления можно измерять уровни PDL1, CD8 и/или IFN- γ в целом в образце. В этом случае высокий уровень CD8 или IFN- γ в образце может представлять собой уровень этого белка, обычно наблюдаемый в опухоли, инфильтрированной TIL. Аналогично, высокий уровень PD-L1 может представлять собой уровень этого белка, обычно наблюдаемый в образце опухоли, например в микроокружении опухоли.

Идентификация подгрупп пациентов, которые являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN- γ , как показано в примере 10 настоящего описания, выявила определенные субпопуляции пациентов, которые, вероятно, будут особенно хорошо отвечать на терапию антителом против PD-1. Например, многие пациенты с раком молочной железы IM-TN (иммуномодулирующий, тройной отрицательный) являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ . Рак молочной железы IM-TN описан, например, в Brian D. Lehmann et al., "Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies", *J Clin Invest.* Jul 1, 2011; 121(7): 2750-2767. Тройной отрицательный рак молочной железы представляет собой рак молочной железы, который не экспрессирует рецептора эстрогена (ER), рецептора прогестерона (PR) и Her2/neu. Эти злокачественные опухоли трудно лечить, поскольку они обычно не отвечают на средства, которые нацелены на ER, PR и Her2/neu. Тройной отрицательный рак молочной железы может быть далее подразделен на различные классы, один из которых является иммуномодулирующим. Как описано в Lehmann et al., рак молочной железы IM-TN обогащен факторами, вовлеченным в процессы иммунных клеток, например, один или несколько из передачи сигнала иммунными клетками (например, каскад TH1/TH2, каскад NK-клеток, каскад передачи сигнала В-клеточным рецептором, каскад DC и передача сигнала Т-клеточным рецептором), передачи сигнала цитокинами (например, каскад цитокинов, каскад IL-12 и каскад IL-7), процессинга и представления антигена, передачи сигнала через центральные иммунные каскады передачи сигнала (например, передача сигнала NFKB, TNF и JAK/STAT), генов, вовлеченных в Т-клеточную функцию, иммунной транскрипции, ответа интерферона (IFN) и процессинга антигенов. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль, подлежащая лечению, представляет собой злокачественную опухоль, которая является или для которой определено, что она является положительной по одному или нескольким маркерам рака молочной железы IM-TN, например, фактору, который стимулирует одно или несколько из передачи сигнала иммунными клетками (например, каскад TH1/TH2, каскад NK-клеток, каскад передачи сигнала В-клеточным рецептором, каскад DC и передача сигнала Т-клеточным рецептором), передачи сигнала цитокинами (например, каскад цитокинов, каскад IL-12 и каскад IL-7), процессинга и представления антигена, передачи сигнала через центральные иммунные каскады передачи сигнала (например, передача сигнала через NFKB, TNF и JAK/STAT), генов, вовлеченных в Т-клеточную функцию, иммунной транскрипции, ответа интерферона (IFN) и процессинга антигена.

В качестве другого примера, в рамках настоящего изобретения показано, что подгруппа пациентов с раком толстого кишечника, имеющих высокую MSI (микросателлитная нестабильность) также является тройной положительной по PD-L1/CD8/IFN- γ . Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1, необязательно в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами, такими как антитело против TIM-3, описанное в настоящем описании, антитело против LAG-3 или антитело против PD-L1, и одно или несколько средств против злокачественной опухоли, например средство против злокачественной опухоли, описанное в табл. 6 или в публикации в табл. 6, вводят пациенту, который имеет или который идентифицирован как имеющий рак толстого кишечника с высокой MSI, тем самым осуществляя лечение злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления клетка с высокой MSI представляет собой клетку, имеющую MSI на уровне, превышающем эталонную величину, или величину в контрольной клетке, например незлокачественной клетке того же типа ткани, что и злокачественная опухоль.

В качестве другого примера, в рамках настоящего изобретения показано, что подгруппа пациентов с раком желудка, имеющих высокую MSI, и/или которые являются EBV+, также являются тройными положительными по PD-L1/CD8/IFN- γ . Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1, необязательно в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами, такими как антитело против TIM-3, описанное в настоящем описании, антитело против LAG-3 или антитело против PD-L1 и одно или несколько средств против злокачественной опухоли, например средство против злокачественной опухоли, описанное в табл. 6 или в публикации в табл. 6, вводят пациенту, который имеет или который идентифицирован как имеющий рак желудка с высокой MSI и/или EBV+, тем самым осуществляя лечение злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления клетка с высокой MSI представляет собой клетку, имеющую MSI на уровне, превышающем эталонную величину или величину в контрольной клетке, например незлокачественной клетке того же типа ткани, что и злокачественная опухоль.

Кроме того, в настоящем описании описаны способы анализа злокачественной опухоли в отношении PD-L1, а затем лечения злокачественной опухоли антителом против PD-1, необязательно в комбинации

ции с одним или несколькими иммуномодуляторами, такими как антитело против TIM-3, описанное в настоящем описании, антитело против LAG-3 или антитело против PD-L1. Как описано в примере 10 настоящего описания, образец злокачественной опухоли можно анализировать в отношении уровней белка или уровней мРНК PD-L1. Образец, имеющий уровни PD-L1 (белок или мРНК), превышающие эталонную величину или величину в контрольной клетке (например, незлокачественная клетка), можно классифицировать как положительный по PD-L1. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 (необязательно в комбинации с одним или несколькими средствами против злокачественной опухоли, необязательно в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами, такими как антитело против TIM-3, описанное в настоящем описании, антитело против LAG-3 или антитело против PD-L1) вводят пациенту, который имеет или который идентифицирован как имеющий злокачественную опухоль, которая является положительной по PD-L1. Злокачественная опухоль может представлять собой, например, немелкоклеточную аденокарциному легкого (NSCLC) (ACA), плоскоклеточную карциному NSCLC (SCC) или печеночно-клеточную карциному (HCC).

Исходя из, например, примера 9 настоящего описания, было обнаружено, что определенные типы рака желудка, которые являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ , также являются положительными по PI3КА. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления злокачественную опухоль можно лечить молекулой антитела против PD-1 (необязательно в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами, например молекулой антитела против LAG-3, молекулой антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, или молекулой антитела против PD-L1) и средством, которое ингибирует PI3КА. Иллюстративные средства в этой категории описаны в Stein RC (September 2001). "Prospects for phosphoinositide 3-kinase inhibition as a cancer treatment". *Endocrine-related Cancer* 8(3):237-48, и Marone R, Smiljanovic V, Giese B, Wymann MP (January 2008), "Targeting phosphoinositide 3-kinase: moving towards therapy", *Biochimica et Biophysica Acta* 1784(1):159-85.

Исходя из, например, примера 9 настоящего описания, CRC, например, пациента, который имеет (или идентифицирован как имеющий) CRC с высокой MSI можно лечить антителом против PD-1, необязательно в комбинации с терапевтическим средством, которое нацелено на одно или несколько из TIM-3, например антителом против TIM-3, описанным в настоящем описании, LAG-3, RNF43 и BRAF. Например, эти злокачественные опухоли можно лечить антителом против PD-1, необязательно в комбинации с одним или несколькими терапевтическими средствами, которые нацелены на одно или несколько из TIM-3, LAG-3, PD-1, RNF43 и BRAF. В вариантах осуществления одно или несколько терапевтических средств включают иммуномодуляторы, такие как антитело против TIM-3, описанное в настоящем описании, молекула антитела против LAG-3 и средство против злокачественной опухоли, описанное в табл. 6 или в публикации, приведенной в табл. 6. Ингибиторы LAG-3, например антитела, описаны в настоящем описании. RNF43 можно ингибировать, например, антителом, низкомолекулярным соединением (например, 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиазин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение A28)), мРНК или лигандом Rspo или его производным. Ингибиторы BRAF (например, вемурафениб или дабрафениб) описаны в настоящем описании.

Исходя из, например, примера 9 настоящего описания, пациента, который имеет (или идентифицирован как имеющий) плоскоклеточный рак легкого можно лечить молекулой антитела против PD-1 в комбинации с терапевтическим средством, которое нацелено на TIM-3, например молекулой антитела против TIM-3, LAG-3, например молекулой антитела против LAG-3, и необязательно одним или несколькими средствами против злокачественной опухоли, например средством против злокачественной опухоли, описанным в табл. 6 или в публикации, приведенной в табл. 6.

В некоторых вариантах осуществления индивидуума, который имеет (или идентифицирован как имеющий) плоскоклеточный рак легкого, можно лечить антителом против PD-1 необязательно в комбинации с терапевтическим средством, которое нацелено на TIM-3, например антителом против TIM-3, описанным в настоящем описании.

Исходя из, например, примера 9 настоящего описания, пациента, который имеет (или идентифицирован как имеющий) рак щитовидной железы можно лечить молекулой антитела против PD-1, необязательно в комбинации с терапевтическим средством, которое нацелено на BRAF, и необязательно в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами, например молекулой антитела против LAG-3, молекулой антитела против TIM-3, описанной в настоящем описании, и молекулой антитела против PD-L1. Ингибиторы BRAF (например, вемурафениб или дабрафениб) описаны в настоящем описании, например в табл. 6 и в публикациях, приведенных в табл. 6.

В других вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой гематологическую злокачественную опухоль или злокачественную опухоль, включающую, но не ограничивающуюся ими, лейкоз или лимфому. Например, молекулу антитела против TIM-3 можно использовать для лечения злокачественных опухолей и новообразований, включая, но не ограничиваясь ими, например, острые лейкозы, включая, но не ограничиваясь ими, например, В-клеточный острый лимфоидный лейкоз ("BALL"), Т-клеточный острый лимфоидный лейкоз ("TALL"), острый лимфоидный лейкоз (ALL); один или несколько из хронических лейкозов, включая, но не ограничиваясь ими, например, хронический миелогенный лейкоз (CML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL); дополнительные гематологические злокаче-

ственные опухоли или гематологические состояния, включающие, но не ограничивающиеся ими, например, В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, бластное плазмацитоидное новообразование из дендритных клеток, лимфому Беркитта, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, фолликулярную лимфому, волосатоклеточный лейкоз, мелкоклеточную или крупноклеточную фолликулярную лимфому, злокачественные лимфопролиферативные состояния, лимфому MALT, лимфому из клеток мантимальной зоны, лимфому из клеток маргинальной зоны, множественную миелому, миелодисплазию и миелодиспластический синдром, неходжжискинскую лимфому, плазмобластную лимфому, плазмацитоидное новообразование из дендритных клеток, макроглобулинемию Вальденстрема и "прелейкоз", которые являются разнообразным набором гематологических состояний, объединенных неэффективной продукцией (или дисплазией) миелоидных клеток крови и т.п.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют для лечения злокачественной опухоли, которая экспрессирует TIM-3. Экспрессирующие TIM-3 злокачественные опухоли включают рак шейки матки (Cao et al., PLoS One. 2013;8(1):e53834), рак легкого (Zhuang et al., Am J Clin Pathol. 2012;137(6):978-985) (например, немелкоклеточный рак легкого), острый миелоидный лейкоз (Kikushige et al., Cell Stem Cell. 2010 Dec 3;7(6):708-17), диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, меланому (Fourcade et al., JEM, 2010; 207 (10):2175), рак почки (например, почечноклеточный рак (RCC), например светлоклеточная карцинома почки, карцинома папиллярных клеток почки или метастатический почечноклеточный рак), плоскоклеточную карциному, плоскоклеточную карциному пищевода, карциному носоглотки, рак ободочной и прямой кишки, рак молочной железы (например, рак молочной железы, который не экспрессирует один, два или все из рецептора эстрогена, рецептора прогестерона или Her2/неу, например, тройной отрицательный рак молочной железы), мезотелиому, печеночно-клеточную карциному и рак яичника. Экспрессирующая TIM-3 злокачественная опухоль может представлять собой метастазирующую злокачественную опухоль. В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют для лечения злокачественной опухоли, которая характеризуется макрофагальной активностью или высокой экспрессией маркеров макрофагальных клеток. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют для лечения злокачественной опухоли, которая характеризуется высокой экспрессией одного или нескольких из следующих маркеров макрофагальных клеток: LILRB4 (ингибиторный рецептор макрофагов), CD14, CD16, CD68, MSR1, SIGLEC1, TREM2, CD163, ITGAX, ITGAM, CD11b или CD11c. Примеры таких злокачественных опухолей включают, но не ограничиваются ими, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, мультиформную глиобластому, светлоклеточную карциному почки, аденокарциному поджелудочной железы, саркому, печеночно-клеточную карциному печени, аденокарциному легкого, карциному папиллярных клеток почки, кожную меланому, низкодифференцированную глиому головного мозга, плоскоклеточную карциному легкого, серозную цистаденокарциному яичника, плоскоклеточную карциному головы и шеи, инвазивную карциному молочной железы, острый миелоидный лейкоз, плоскоклеточную карциному шейки матки, эндоцервикальную аденокарциному, карциному матки, рак ободочной и прямой кишки, карциному эндометрия тела матки, карциному щитовидной железы, карциному уротелия мочевого пузыря, карциному надпочечников, хромофобную аденокарциному почки и аденокарциному предстательной железы.

В одном варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак легкого, например аденокарциному легкого.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак почки, например почечноклеточный рак (RCC) (например, светлоклеточную карциному почки или карциному папиллярных клеток почки) или его метастатический очаг.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой мезотелиому.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой карциному носоглотки (NPC).

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой гематологическую злокачественную опухоль (например, миелоидный лейкоз, например, острый миелоидный лейкоз (AML)).

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой лимфому (например, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома).

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак молочной железы, например, тройного отрицательного (TN) и/или иммуномодулирующего подтипа.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой мультиформную глиобластому.

В другом варианте осуществления злокачественная опухоль представляет собой рак яичника (например, карцинома яичника).

В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль представляет собой солидную опухоль и молекулу антитела вводят в комбинации с молекулой антитела против LAG-3 или против PD-1.

Комбинация антител против TIM-3 с вакцинами против злокачественной опухоли

Молекулы антител к TIM-3 можно комбинировать с иммуногенным средством, таким как злокачественные клетки, очищенные опухолевые антигены (включая рекомбинантные белки, пептиды и молекулы углеводов), клетки и клетки, трансфицированные генами, кодирующими иммуностимулирующие цитокины (He et al. (2004) *J. Immunol.* 173:4919-28). Неограничивающие примеры вакцин против опухоли, которые можно использовать, включают пептиды антигенов меланомы, такие как пептиды gp100, антигенов MAGE, Trp-2, MART1 и/или тирозиназы, или опухолевые клетки, трансфицированные для экспрессии цитокина GM-CSF, вакцины на основе ДНК, вакцины на основе РНК и вакцины на основе вирусной трансдукции. Вакцина против злокачественной опухоли может быть профилактической или терапевтической.

В некоторых вариантах осуществления терапию молекулой антитела против TIM-3 комбинируют с протоколом вакцинации. Было разработано множество экспериментальных стратегий для вакцинации против опухолей (см. Rosenberg, S., 2000, *Development of Cancer Vaccines*, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C., 2000, *ASCO Educational Book Spring*: 300-302; Khayat, D. 2000, *ASCO Educational Book Spring*: 414-428; Foon, K. 2000, *ASCO Educational Book Spring*: 730-738; см. also Restifo, N. и Szabolcsovics, M., *Cancer Vaccines*, Ch. 61, pp. 3023-3043 in DeVita, V. et al. (eds.), 1997, *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Fifth Edition). В одной из этих стратегий вакцину получают с использованием аутологичных или аллогенных опухолевых клеток. Было показано, что эти клеточные вакцины являются наиболее эффективными, когда опухолевые клетки трансдуцируют для экспрессии GM-CSF. Было показано, что GM-CSF является мощным активатором представления антигенов для вакцинации против опухоли (Dranoff et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 3539-43).

Молекулы антител против TIM-3 можно использовать вместе с коллекцией рекомбинантных белков и/или пептидов, экспрессируемых в опухоли, для индукции иммунного ответа на эти белки. Эти белки обычно рассматриваются иммунной системой как собственные антигены и, таким образом, она толерантна к ним. Опухолевый антиген также может включать белок теломеразы, которая требуется для синтеза теломер хромосом и которая экспрессируется при более чем 85% злокачественных опухолей и только в ограниченном количестве соматических тканей (Kim, N et al. (1994) *Science* 266:2011-2013) (эти соматические ткани могут быть защищены от иммунной атаки различными способами). Опухолевые антигены также могут представлять собой "неоантигены", экспрессируемые в злокачественных клетках вследствие соматических мутаций, которые изменяют белковую последовательность или образуют слитые белки между двумя неродственными последовательностями (например, bcr-abl в хромосоме Philadelphia), или идиотип в случае В-клеточных опухолей.

Другие вакцины против опухоли могут включать белки из вирусов, вовлеченных в злокачественные опухоли человека, таких как вирусы папилломы человека (HPV), вирусы гепатита (HBV и HCV) и герпес-вирус саркомы Капоши (KHSV) и вирус Эпштейна-Барр (EBV). Другой формой специфического опухолевого антигена, которую можно использовать вместе с антителом против TIM-3, являются очищенные белки теплового шока (HSP), выделенные непосредственно из опухолевой ткани. Эти белки теплового шока содержат фрагменты белков из опухолевых клеток, и эти HSP являются высокоэффективными в отношении доставки в антигенпредставляющие клетки для индукции опухолевого иммунитета (Suot, R & Srivastava, P (1995) *Science* 269:1585-1588; Tamura, Y. et al. (1997) *Science* 278:117-120).

Дендритные клетки (DC) представляют собой эффективные антигенпредставляющие клетки, которые можно использовать для индукции антигенспецифических ответов. DC можно продуцировать *ex vivo* и нагружать различными белковыми и пептидными антигенами, а также экстрактами опухолевых клеток (Nestle, F. et al. (1998) *Nature Medicine* 4: 328-332). DC также можно трансдуцировать генетическими способами для экспрессии этих опухолевых антигенов. DC были подвергнуты слиянию непосредственно с опухолевыми клетками для целей иммунизации (Kugler, A. et al. (2000) *Nature Medicine* 6:332-336). В качестве способа вакцинации иммунизацию посредством DC можно эффективно комбинировать с терапией против TIM-3 для активации более мощных противоопухолевых ответов.

Альтернативно или в комбинации, комбинация, кроме того, включает ингибитор или активатор модулятора контрольной точки иммунного ответа, например ингибитор LAG-3 (например, молекула антитела против TIM-3), ингибитор PD-L1 (например, молекула антитела против PD-L1), ингибитор PD-1 (например, молекула антитела против PD-1) или ингибитор CTLA-4 (например, антитело против CTLA-4) или любую их комбинацию.

Блокаду TIM-3 также можно комбинировать со стандартным способом лечения злокачественной опухоли. Блокаду TIM-3 можно эффективно комбинировать с химиотерапевтическими режимами. В этих случаях может быть возможным снижение дозы вводимого химиотерапевтического реагента (Мокуг, М. et al. (1998) *Cancer Research* 58: 5301-5304). В определенных вариантах осуществления проведение способов и введение композиций, описанных в настоящем описании, осуществляют в комбинации с одной или несколькими другими молекулами антител, химиотерапией, другой терапией злокачественной опухоли (например, направленной терапией злокачественной опухоли или онколитические лекарственные средства), цитотоксическими средствами, способами иммунной терапии (например, цитокины), хирургическими и/или лучевыми процедурами. Иллюстративные цитотоксические средства, которые можно вво-

дить в комбинации, включают антимикротубулиновые средства, ингибиторы топоизомеразы, антиметаболиты, ингибиторы митоза, алкилирующие средства, антрациклины, алкалоиды барвинка, интеркалирующие средства, средства, способные препятствовать каскаду передачи сигнала, средства, которые стимулируют апоптоз, ингибиторы протеасом и лучевую терапию (например, локальное облучение или облучение всего организма).

Альтернативно или в комбинации с вышеупомянутыми комбинациями, проведение способов и введение композиций, описанных в настоящем описании, можно осуществлять в комбинации с одним или несколькими из: иммуномодулятора (например, активатор костимулирующей молекулы или ингибитор ингибиторной молекулы); вакцины, например терапевтической вакцины против злокачественной опухоли; или других форм клеточной иммунотерапии.

Иллюстративные неограничивающие комбинации и применения молекул антител против TIM-3 включают следующие комбинации.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с модулятором костимулирующей молекулы или ингибиторной молекулы, например, коингибиторного лиганда или рецептора.

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с модулятором, например агонистом, костимулирующей молекулы. В одном варианте осуществления агонист костимулирующей молекулы выбран из агониста (например, антитело-агонист или его антигенсвязывающий фрагмент или растворимая слитая конструкция) OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 или лиганда CD83.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с костимулирующей молекулой, например агонистом, ассоциированным с положительным сигналом, который включает костимулирующий домен CD28, CD27, ICOS и GITR.

Иллюстративные агонисты GITR включают, например, слитые белки GITR и антитела против GITR (например, двухвалентные антитела против GITR), такие как слитый белок GITR, описанный в патенте США № 6111090, патенте Европы № 090505B1, патенте США № 8586023, публикациях PCT № WO 2010/003118 и 2011/090754, или антитело против GITR, описанное, например, в патенте США № 7025962, патенте Европы № 1947183B1, патенте США № 7812135, патенте США № 8388967, патенте США № 8591886, патенте Европы № EP 1866339, публикации PCT № WO 2011/028683, публикации PCT № WO 2013/039954, публикации PCT № WO 2005/007190, публикации PCT № WO 2007/133822, публикации PCT № WO 2005/055808, публикации PCT № WO 99/40196, публикации PCT № WO 2001/03720, публикации PCT № WO 99/20758, публикации PCT № WO 2006/083289, публикации PCT № WO 2005/115451, патенте США № 7618632 и публикации PCT № WO 2011/051726. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором контрольной точки иммунного ответа (или иммунной ингибиторной молекулы). Термин "точки контроля иммунного ответа", как используют в рамках изобретения, относится к группе молекул на клеточной поверхности иммунных клеток, например CD4 и CD8 T-клеток, которые служат в качестве "тормозов", подавляющих или ингибирующих иммунный ответ, например противоопухолевый иммунный ответ. Молекулы контрольной точки иммунного ответа включают, но не ограничиваются ими, белок запрограммированной смерти 1 (PD-1), PD-L1, цитотоксический T-лимфоцитарный антиген 4 (CTLA-4), B7-H1, B7-H3, B7-H4, OX-40, 4-1BB (CD137), CD40, T-клеточный иммуноглобулиновый домен и домен 3 муцина (TIM-3), и ген активации лимфоцитов 3 (LAG-3), среди прочих.

Иммунотерапевтические средства, которые могут действовать в качестве ингибиторов молекул контрольной точки иммунного ответа, пригодные в комбинации с молекулами антитела против PD-1, описанными в настоящем описании, включают, но не ограничиваются ими, ингибиторы PD-L1, PD-L2, CTLA-4, TIM-3, LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5) и/или TGFR-бета. Ингибирование иммунной ингибиторной молекулы можно проводить посредством ингибирования на уровне ДНК, РНК или белка. В вариантах осуществления для ингибирования экспрессии ингибиторной молекулы можно использовать ингибиторную нуклеиновую кислоту (например, дцРНК, миРНК или кшРНК). В других вариантах осуществления ингибитор ингибиторного сигнала представляет собой полипептид, например растворимый лиганд или антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с ингибиторной молекулой.

В одном варианте осуществления ингибитор представляет собой растворимый лиганд (например, CTLA-4-Ig или TIM-3-Ig) или антитело или фрагмент антитела, который связывается с CTLA-4. Например, молекулу антитела против TIM-3 можно вводить в комбинации с антителом против CTLA-4, например ипилимумабом, например, для лечения злокачественной опухоли (например, злокачественной опухоли, выбранной из: меланомы, например метастазирующей меланомы; рака легкого, например немелкоклеточной карциномы легких; или рака предстательной железы). Иллюстративные антитела против CTLA-4 включают тремелимуаб (моноклональное IgG2-антитело, доступное от Pfizer, прежде известное как тицилимумаб, CP-675.206); и ипилимумаб (антитело против CTLA-4, также известное как MDX-010, CAS № 477202-00-9). В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят

после лечения, например после лечения меланомы, антителом против CTLA-4 (например, ипилимумабом) с ингибитором BRAF (например, вемурафениб или дабрафениб) или без него. Иллюстративные дозы, которые можно использовать, включают дозу антитела против TIM-3 приблизительно от 1 до 30 мг/кг, от 1 до 20 мг/кг или от 1 до 10 мг/кг, например 3 мг/кг, и дозу антитела против CTLA-4, например ипилимумаба, приблизительно 3 мг/кг.

В определенных вариантах осуществления молекулы контрольной точки иммунного ответа, например PD-1, LAG-3, TIM-3, CEACAM-1/-5, могут регулировать T-клеточную функцию, ускоряя иммунное ускользание опухоли. Таким образом, антитела против TIM-3, описанные в настоящем описании, можно использовать в комбинации с одним или несколькими ингибиторами этих иммунных ингибиторных молекул для усиления противоопухолевого ответа. Комбинацию антител, описанную в настоящем описании, можно вводить по отдельности, например в качестве отдельных антител, или связанными, например в качестве биспецифической или триспецифической молекулы антитела.

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с антителом против TIM-3 или его антигенсвязывающим фрагментом. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с антителом против PD-1 или его антигенсвязывающим фрагментом. В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с антителом против TIM-3 и антителом против PD-1 или его антигенсвязывающими фрагментами. В одном варианте осуществления вводят биспецифическое антитело, которое включает молекулу антитела против TIM-3 и антитело против PD-1 или против TIM-3 или его антигенсвязывающий фрагмент. В определенных вариантах осуществления комбинацию антител, описанных в настоящем описании, используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, солидной опухоли). Эффективность вышеуказанных комбинаций можно исследовать в моделях на животных, известных в данной области. Например, модели для животных для исследования эффекта против PD-1 и против LAG-3 описаны, например, в Woo et al. (2012) *Cancer Res.* 72(4):917-27).

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы молекул TIM-3 и PD-1 (например, молекулы антител против TIM-3 и против PD-1) вводят в комбинации, например, для лечения злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления индивидум представляет собой пациента, у которого произошло прогрессирование (например, произошел рост опухоли) в ходе терапии ингибитором PD-1 (например, молекула антитела, как описано в настоящем описании) и/или ингибитором PD-L1 (например, молекула антитела против PD-L1). В некоторых вариантах осуществления терапию молекулой антитела против PD-1 и/или молекулой антитела против PD-L1 продолжают и к терапии добавляют иммунную ингибирующую TIM-3 молекулу (например, антитело).

В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором CEACAM (например, ингибитор CEACAM-1, CEACAM-3 и/или CEACAM-5). В одном варианте осуществления ингибитор CEACAM представляет собой молекулу антитела против CEACAM. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором CEACAM-1, например молекулой антитела против CEACAM-1. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором CEACAM-3, например молекулой антитела против CEACAM-3. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с ингибитором CEACAM-5 например, молекулой антитела против CEACAM-5. Иллюстративные антитела против CEACAM-1 описаны в WO 2010/125571, WO 2013/082366 и WO 2014/022332, например, моноклональное антитело 34B1, 26H7 и 5F4; или их рекомбинантная форма, как описано, например, в US 2004/0047858, US 7132255 и WO99/052552. В других вариантах осуществления антитело против CEACAM связывается с CEACAM-5, как описано, например, в Zheng et al. *PLoS One.* 2010 Sep 2;5(9). pii: e12529 (DOI:10.1371/journal.pone.0021146) или перекрестно реагирует с CEACAM-1 и CEACAM-5, как описано, например, в WO 2013/054331 и US 2014/0271618.

Без связи с теорией полагают, что карциноэмбриональный антиген клеточной адгезии молекулы (CEACAM), такой как CEACAM-1 и CEACAM-5, опосредует, по меньшей мере частично, ингибирование противоопухолевого иммунного ответа (см., например, Markel et al. *J Immunol.* 2002 Mar 15;168(6):2803-10; Markel et al. *J Immunol.* 2006 Nov 1;177(9):6062-71; Markel et al. *Immunology.* 2009 Feb;126(2):186-200; Markel et al. *Cancer Immunol Immunother.* 2010 Feb; 59(2):215-30; Ortenberg et al. *Mol Cancer Ther.* 2012 Jun; 11(6):1300-10; Stern et al. *J Immunol.* 2005 Jun 1; 174(11):6692-701; Zheng et al. *PLoS One.* 2010 Sep 2; 5(9). pii:e12529). Например, CEACAM-1 был описан в качестве гетерофильного лиганда для TIM-3 и в качестве играющего роль в опосредуемой TIM-3 T-клеточной толерантности и истощении (см., например, WO 2014/022332; Huang, et al. (2014) *Nature* doi:10.1038/nature13848). В вариантах осуществления было показано, что совместная блокада CEACAM-1 и TIM-3 усиливает противоопухолевый эффект в моделях с ксенотрансплантатом рака ободочной и прямой кишки (см., например, WO 2014/022332; Huang, et al. (2014), выше). В других вариантах осуществления совместная блокада CEACAM-1 и PD-1 снижает T-клеточную толерантность, как описано, например, в WO 2014/059251. Таким образом, ингибиторы CEACAM можно использовать с другими иммуномодуляторами, описанными в настоящем описании (например, ингибиторы PD-1 и/или TIM-3) для усиления иммунного ответа против злокачественной опухоли, например меланомы, рака легкого (например, NSCLC), рака мочевого пузыря, рака толсто-

го кишечника рака яичника и других злокачественных опухолей, как описано в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления иммунные ингибирующие PD-1 и TIM-3 молекулы (например, молекулы антитела) вводят в комбинации с друг с другом, например, для лечения злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, у которого произошло прогрессирование (например, произошел рост опухоли) в ходе терапии ингибитором PD-1 (например, молекулой антитела, как описано в настоящем описании) и/или ингибитором PDL1 (например, молекулой антитела). В некоторых вариантах осуществления терапию молекулой антитела против PD-1 и/или молекулой антитела против PDL1 продолжают и к терапии добавляют иммунную ингибирующую TIM-3 молекулу (например, антитело).

В некоторых вариантах осуществления иммунные ингибирующие TIM-3 и LAG-3 молекулы (например, молекулы антитела) вводят в комбинации с друг с другом, например, для лечения злокачественной опухоли. В некоторых вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, у которого произошло прогрессирование (например, произошел рост опухоли) в ходе терапии ингибитором TIM-3 (например, молекулой антитела, как описано в настоящем описании) и/или ингибитором PD-1 (например, молекулой антитела). В некоторых вариантах осуществления терапию молекулой антитела против TIM-3 и/или молекулой антитела против PDL1 продолжают и к терапии добавляют иммунную ингибирующую LAG-3 молекулу (например, антитело).

В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с цитокином, например интерлейкином-21, интерлейкином-2 или интерлейкином-15. В определенных вариантах осуществления комбинацию молекулы антитела против TIM-3 и цитокина, описанную в настоящем описании, используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, солидной опухоли или меланомы).

Иллюстративные иммуномодуляторы, которые можно использовать в комбинации с молекулами антител против TIM-3, включают, но не ограничиваются ими, например, афутузумаб (доступный от Roche®); пегфилграстим (Neulasta®); леналидомид (CC-5013, Revlimid®); талидомид (Thalomid®), актимид (CC4047) и цитокины, например IL-21 или IRX-2 (смесь цитокинов человека, включая интерлейкин 1, интерлейкин 2 и интерферон γ , CAS 951209-71-5, доступная от IRX Therapeutics).

В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с ингибитором индоламин-пиррол-2,3-диоксигеназы (IDO) (например, INCB24360) у индивидуума с развернутой или метастазирующей злокачественной опухолью (например, у пациента с метастазирующей или рецидивирующей злокачественной опухолью NSCL).

В других вариантах осуществления молекулы антител против TIM-3 вводят индивидууму совместно с (например, до, одновременно или после) одним или несколькими из: трансплантации костного мозга, истощающей T-клетки терапии с использованием химиотерапевтических средств, таких как флударабин, лучевой терапии внешним пучком (XRT), циклофосфида и/или антител, таких как OKT3 или CAMPATH. В одном варианте осуществления молекулы антител против TIM-3 вводят после истощающей B-клетки терапии, такой как средства, которые реагируют с CD20, например ритуксан. Например, в одном варианте осуществления индивидуумы могут подвергаться стандартному лечению химиотерапией в высокой дозе с последующей трансплантацией стволовых клеток периферической крови. В определенных вариантах осуществления после трансплантации индивидуумам вводят молекулы антител против TIM-3. В дополнительном варианте осуществления молекулы антител против TIM-3 вводят до или после хирургической операции.

Другим примером комбинации является антитело против TIM-3 в комбинации с декарбазином для лечения меланомы. Без связи с теорией, полагают, что комбинированному применению блокады TIM-3 и химиотерапии способствует клеточная гибель, которая является следствием цитотоксического действия большинства химиотерапевтических соединений, которое может приводить к увеличенным уровням опухолевого антигена в каскаде представления антигена. Другими способами комбинированной терапии, которые могут приводить к синергии с блокадой TIM-3 через клеточную смерть, являются лучевая терапия, хирургическая операция и дефицит гормонов. Каждый из этих протоколов создает источник опухолевого антигена в хозяине. Также с блокадой TIM-3 можно комбинировать ингибиторы ангиогенеза. Ингибирование ангиогенеза приводит к гибели опухолевых клеток, которые могут предоставлять опухолевый антиген в каскады представления антигена хозяина.

Блокирующие TIM-3 антитела также можно использовать в комбинации с биспецифическими антителами. Биспецифические антитела можно использовать для нацеливания на два отдельных антигена. Например, биспецифические антитела против Fc-рецептора/против опухолевого антигена (например, Her-2/neu) используют для нацеливания макрофагов в область опухоли. Это нацеливание может более эффективно активировать опухолеспецифические ответы. T-клеточное звено этих ответов может быть усилено с использованием блокады TIM-3. Альтернативно антиген можно доставлять прямо в DC с использованием биспецифических антител, которые связываются с опухолевым антигеном и специфическим маркером клеточной поверхности дендритных клеток.

Опухоли ускользают от иммунного надзора хозяина посредством большого разнообразия механизмов. Многие из этих механизмов могут быть преодолены посредством инактивации белков, которые экс-

прессуруются опухолями и которые являются иммунодепрессивными. Они включают, среди прочих, TGF-бета (Kehrl, J. et al. (1986) *J. Exp. Med.* 163: 1037-1050), IL-10 (Howard, M. & O'Garra, A. (1992) *Immunology Today* 13: 198-200) и Fas-лиганд (Hahne, M. et al. (1996) *Science* 274: 1363-1365). Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты к каждой из этих структур можно использовать в комбинации с молекулами антител против TIM-3 для противодействия эффектам иммунодепрессивного средства и содействия иммунным ответам хозяина.

Другие антитела, которые можно использовать для активации способности хозяина к иммунному ответу, можно использовать в комбинации с молекулами антител против TIM-3. Они включают молекулы на поверхности дендритных клеток, которые активируют функцию DC и представление антигена. Антитела против CD40 способны эффективно замещать хелперную активность Т-клеток (Ridge, J. et al. (1998) *Nature* 393: 474-478), и их можно использовать совместно с антителами против PD-1 (Ito, N. et al. (2000) *Immunobiology* 201 (5) 527-40). Антитела к Т-клеточным костимулирующим молекулам, таким как CTLA-4 (например, патент США № 5811097), OX-40 (Weinberg, A. et al. (2000) *Immunol* 164: 2160-2169), 4-1BB (Melero, I. et al. (1997) *Nature Medicine* 3: 682-685 (1997) и ICOS (Hutloff, A. et al. (1999) *Nature* 397: 262-266) также могут обеспечить увеличенные уровни активации Т-клеток.

Дополнительные иллюстративные стандартные способы лечения описаны в разделе под названием "комбинированные способы лечения" ниже.

Во всех из способов, описанных в настоящем описании, блокаду TIM-3 можно комбинировать с другими формами иммунотерапии, такими как лечение цитокинами (например, интерфероны, GM-CSF, G-CSF, IL-2, IL-21) или терапия биспецифическими антителами, которые обеспечивают усиленное представление опухолевых антигенов (см., например, Holliger (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak (1994) *Structure* 2:1121-1123).

Способы введения молекул антител известны в данной области и описаны ниже. Подходящие используемые дозировки молекул, зависят от возраста и массы тела индивидуума и конкретного используемого лекарственного средства. Дозировки и терапевтические режимы молекулы антитела против TIM-3 могут быть определены квалифицированным специалистом. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят путем инъекции (например, подкожно или внутривенно) в дозе приблизительно от 1 до 30 мг/кг, например приблизительно от 5 до 25 мг/кг, приблизительно от 10 до 20 мг/кг, приблизительно от 1 до 5 мг/кг или приблизительно 3 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в дозе приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг или приблизительно 30 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в дозе приблизительно 1-3 мг/кг, приблизительно 3-10 мг/кг, приблизительно 3-15 мг/кг, приблизительно 10-15 мг/кг, приблизительно 10-20 мг/кг, приблизительно 10-25 мг/кг или приблизительно 20-30 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в дозе приблизительно 0,5-2, 2-4, 2-5 или 5-15 мг/кг. Схема дозирования может варьироваться, например, от одного раза в неделю до одного раза в 2, 3 или 4 недели. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят в дозе приблизительно от 10 до 20 мг/кг раз в две недели.

Молекулы антител можно использовать сами по себе или в конъюгированной форме со вторым средством, например цитотоксическим лекарственным средством, радиоактивным изотопом или белком, например белковым токсином или вирусным белком. Этот способ включает: введение молекулы антитела, отдельно или конъюгированной с цитотоксическим лекарственным средством, индивидууму, которому требуется такое лечение. Молекулы антител можно использовать для доставки различных лекарственных средств, например, цитотоксической части, например, терапевтического лекарственного средства, радиоактивного изотопа, молекул растительного, грибного или бактериального происхождения или биологических белков (например, белковых токсинов) или частиц (например, рекомбинантные вирусные частицы, например; через белок вирусной оболочки) или их смесей.

Молекулы антител против TIM-3 также можно комбинировать со стандартными способами лечения злокачественной опухоли. Например, молекулы антител против TIM-3 можно эффективно комбинировать с химиотерапевтическими режимами. В этих случаях может быть возможным снижение дозы введенного химиотерапевтического реагента (Mokyr, M. et al. (1998) *Cancer Research* 58:301-5304). Примером такой комбинации является молекула антитела против TIM-3 в комбинации с декарбазином для лечения меланомы. Другим примером такой комбинации является молекула антитела против TIM-3 в комбинации с интерлейкином-2 (IL-2) для лечения меланомы. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 можно комбинировать с IL-21. Без связи с теорией, одним научным обоснованием комбинированного применения терапии молекулой антитела против TIM-3 и химиотерапии является то, что клеточная гибель, которая является следствием цитотоксического действия большинства химиотерапевтических соединений, должна приводить к увеличенным уровням опухолевого антигена в каскаде представления антигена. Другими способами комбинированной терапии, которые могут приводить к синергии с терапией молекулой антитела против TIM-3 через клеточную гибель, является лучевая терапия, хирургическая операция и дефицит гормонов. Каждый из этих протоколов создает источник опухолевого антигена в хозяине. Также с терапией молекулой антитела против TIM-3 можно комбиниро-

вать ингибиторы ангиогенеза. Ингибирование ангиогенеза приводит к гибели опухолевых клеток, которые могут предоставлять опухолевый антиген каскадам представления антигена хозяина. Молекулы антитела против TIM-3 также можно использовать в комбинации с биспецифическими антителами. Биспецифические антитела можно использовать для нацеливания на два отдельных антигена антигена. Например, биспецифические антитела против рецептора Fc/против опухолевого антигена (например, Her-2/neu) используют для нацеливания макрофагов в области опухоли. Это нацеливание может более эффективно активировать опухолеспецифические ответы. Т-клеточное звено этих ответов может быть усилено применением молекул антител против TIM-3. Альтернативно, антиген можно доставлять прямо в DC с использованием биспецифических антител, которые связываются с опухолевым антигеном и специфическим маркером клеточной поверхности дендритных клеток.

Опухоли ускользают от иммунного надзора хозяина посредством большого разнообразия механизмов. Многие из этих механизмов могут быть преодолены посредством инактивации белков, которые экспрессируются опухолями и которые являются иммунодепрессивными. Они включают, среди прочих, TGF-бета (Kehrl, J. et al. (1986) *J. Exp. Med.* 163: 1037-1050), IL-10 (Howard, M. & O'Garra, A. (1992) *Immunology Today* 13: 198-200), и Fas-лиганд (Hahne, M. et al. (1996) *Science* 274: 1363-1365). Антитела к каждой из этих структур можно использовать в комбинации с молекулами антител против TIM-3 для противодействия эффектам иммунодепрессивного средства и способствования иммунным ответам хозяина.

В комбинации с молекулами антител против TIM-3 можно использовать другие антитела, которые можно использовать для активации способности хозяина к иммунному ответу. Они включают молекулы на поверхности дендритных клеток, которые активируют функцию DC и представление антигена. Антитела против CD40 способны эффективно замещать хелперную активность Т-клеток (Ridge, J. et al. (1998) *Nature* 393: 474-478), и их можно использовать совместно с антителами против PD-1 (Ito, N. et al. (2000) *Immunobiology* 201 (5) 527-40). Активирующие антитела к Т-клеточным костимулирующим молекулам, таким как CTLA-4 (например, патент США № 5811097), OX-40 (Weinberg, A. et al. (2000) *Immunol* 164: 2160-2169), 4-1BB (Melero, I. et al. (1997) *Nature Medicine* 3:682-685 (1997) и ICOS (Hutloff, A. et al. (1999) *Nature* 397:262-266) также могут обеспечить увеличенные уровни активации Т-клеток.

Дополнительные способы комбинированной терапии

Молекулу антитела против TIM-3 можно использовать в комбинации с другими способами терапии. Например, комбинированная терапия может включать композицию по настоящему изобретению, составленную совместно и/или введенную совместно с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами, например одним или несколькими средствами против злокачественной опухоли, цитотоксическими или цитостатическими средствами, гормональным лечением, вакцинами и/или другими способами иммунотерапии. В других вариантах осуществления молекулы антител вводят в комбинации с другими способами терапевтического лечения, включая хирургическую операцию, лучевую терапию, криохирургию и/или термотерапию. В таких комбинированных способах терапии можно преимущественно использовать более низкие дозировки вводимых лекарственных средств, таким образом избегая возможной токсичности или осложнений, ассоциированных с различными способами монотерапии.

Под термином "в комбинации с" подразумевают, что проведение терапии или введение лекарственных средств необходимо осуществлять в одно и то же время и/или составлять для доставки вместе, хотя эти способы доставки входят в объем, описанный в настоящем описании. Молекулы антител против TIM-3 можно вводить одновременно, перед или после одного или нескольких других дополнительных способов терапии или лекарственных средств. Введение молекулы антитела против TIM-3 и другого средства или проведение терапевтического протокола можно осуществлять в любом порядке. Как правило, каждое средство вводят в дозе и/или по расписанию, определенным для данного средства. Кроме того, будет понятно, что дополнительное лекарственное средство, используемое в этой комбинации, можно вводить совместно в одной композиции или вводить по отдельности в различных композициях. Как правило, ожидается, что дополнительные лекарственные средства, используемые в комбинации, можно использовать на уровнях, которые не превышают уровни, при которых их используют по отдельности. В некоторых вариантах осуществления уровни, используемые в комбинации, будут более низкими, чем уровни, используемые по отдельности.

В определенных вариантах осуществления молекулы антител против TIM-3, описанные в настоящем описании, вводят в комбинации с одним или несколькими другими ингибиторами TIM-3 или других молекул контрольной точки иммунного ответа, например PD-1, PD-L1, PD-L2, CEACAM (например, CEACAM-1, CEACAM-3 или CEACAM-5) или LAG-3.

В определенных вариантах осуществления молекулы антител против TIM-3, описанные в настоящем описании, вводят в комбинации с одним или несколькими другими ингибиторами PD-1, PD-L1 и/или PD-L2, известными в данной области. Антагонист может представлять собой антитело, его антигенсвязывающий фрагмент, иммуноадгезин, слитый белок или олигопептид. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 выбрано из MDX-1106, Merck 3475 или CT-011. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой иммуноадгезин (например, иммуноадгезин, содержащий внеклеточную или связывающую PD-1 часть PD-L1 или PD-L2, слитую с константной обла-

стью (например, Fc-область последовательности иммуноглобулина)). В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой AMP-224. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой антитело против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления связывающий PD-L1 антагонист выбран из YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C или MDX-1105. MDX-1105, также известный как BMS-936559, представляет собой антитело против PD-L1, описанное в WO 2007/005874. Антитело YW243.55.S70 (последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепей, показанные в SEQ ID NO: 20 и 21, соответственно) представляет собой антитело против PD-L1, описанное в WO 2010/077634.

MDX-1106, также известный как MDX-1106-04, ONO-4538 или BMS-936558, представляет собой антитело против PD-1, описанное в WO 2006/121168. Merck 3745, также известное как МК-3475 или SCH-900475, представляет собой антитело против PD-1, описанное в WO 2009/114335. Пидилизумаб (CT-011; Cure Tech) представляет собой гуманизованное моноклональное IgG1k-антитело, которое связывается с PD-1. Пидилизумаб и другие гуманизованные моноклональные антитела против PD-1 описаны в WO 2009/101611. В других вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб (торговое название Keytruda, прежде ламбролизумаб, также известный как МК-3475) описан, например, в Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369(2):134-44. AMP-224 (B7-DCI_g; Amplimmune; например, описанный в WO 2010/027827 и WO 2011/066342) представляет собой слитую конструкцию растворимого рецептора PD-L2 с Fc, которая блокирует взаимодействие между PD-1 и B7-H1. Другие антитела против PD-1 включают AMP 514 (Amplimmune), среди прочих, например, антитела против PD-1, описанные в US 8609089, US 2010028330 и/или US 20120114649.

В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой MDX-1106. Альтернативные названия для MDX-1106 включают MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 или ниволумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб (регистрационный номер CAS: 946414-94-4). Ниволумаб (также обозначаемый как BMS-93 6558 или MDX1106; Bristol-Myers Squibb) представляет собой полностью человеческое моноклональное IgG4-антитело, которое специфически блокирует PD-1. Ниволумаб (клон 5C4) и другие моноклональные антитела человека, которые специфически связываются с PD-1, описаны в US 8008449 и WO 2006/121168. Пембролизумаб (торговое название Keytruda, прежде лабролизумаб, также известный как МК-3475; Merck) представляет собой гуманизованное моноклональное IgG4-антитело, которое связывается с PD-1. Ламбролизумаб и другие гуманизованные антитела против PD-1 описаны в US 8354509 и WO 2009/114335. MDPL3280A (Genentech/Roche) представляет собой оптимизированное посредством Fc человека моноклональное IgG1-антитело, которое связывается с PD-L1. MDPL3280A и другие моноклональные антитела человека к PD-L1 описаны в патенте США № 7943743 и публикации США № 20120039906. Другие связывающие PD-L1 соединения связующие вещества включают YW243.55.S70 (варибельные области тяжелой и легкой цепей показаны в SEQ ID NO: 20 и 21 в WO 2010/077634) и MDX-1105 (также обозначаемый как BMS-936559, и, например, связывающие PD-L1 соединения, описанные в WO 2007/005874).

Способы терапии злокачественной опухоли

Иллюстративные комбинации молекул антител против TIM-3 (отдельно или в комбинации с другими стимулирующими средствами) и стандарт лечения злокачественной опухоли, включают по меньшей мере следующие.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, описанную в настоящем описании, используют в комбинации со стандартным способом лечения злокачественной опухоли, представляющим собой химиотерапевтическое средство, включая, но не ограничиваясь ими, анастрозол (Arimidex®), бикалутамид (Casodex®), блеомицин сульфат (Blenoxane®), бусульфан (Myleran®), бусульфан инъекционный (Busulfex®), капецитабин (Xeloda®), N4-пентоксикарбонил-5-дезоксид-5-фторцитидин, карбоплатин (Paraplatin®), кармустин (BiCNU®), хлорамбуцил (Leukeran®), цисплатин (Platinol®), кладрибин (Leustatin®), циклофосфамид (Cytosan® или Neosar®), цитарабин, цитозин арабинозид (Cytosar-U®), липосомальную инъекцию цитарабина (DepoCyt®), дакарбазин (DTIC-Dome®), дактиномицин (актиномицин D, космоган), даунорубицина гидрохлорид (Cerubidine®), липосомальную инъекцию даунорубицина цитрата (DaunoXome®), дексаметазон, доцетаксел (Таксотер®), доксорубицина гидрохлорид (Adriamycin®, Rubex®), этопозид (Vepesid®), флударабина фосфат (Fludara®), 5-фторурацил (Adrucil®, Efudex®), флутамид (Eulexin®), тезацитибин, гемцитабин (дифтордезоксифторидин), гидроксимочевину (Hydrea®), идарубицин (Idamycin®), ифосфамид (IFEX®), иринотекан (Камптосар®), L-аспарагиназу (ELSPAR®), лейковорин кальций, мелфалан (Alkeran®), 6-меркаптопурин (Purinol®), метотрексат (Folex®), митоксантрон (Novantrone®), милотарг, паклитаксел (Taxol®), феникс (иттрий 90/MX-DTPA), пентостатин, имплант полифепросана 20 с кармустином (Gliadel®), тамоксифена цитрат (Nolvadex®), тенипозид (Vumon®), 6-тиогуанин, тиотепу, тирапазамин (Tirazone®), топотекана гидрохлорид для инъекций (Нусамптин®), винбластин (Velban®), винкристин (Oncovin®) и винорелбин (Navelbine®), ибругитиниб, иделалисиб и брентуксимаб ведотин.

Иллюстративные алкилирующие средства включают, но не ограничиваются ими, азотистые ипри-ты, производные этиленмина, алкилсульфонаты, нитрозомочевина и триазены: урацил мустард (Aminouracil Mustard®, Chlorethaminacil®, Demethylodopan®, Desmethylodopan®, Haemanthamine®, Nordopan®, Uracil nitrogen mustard®, Uracillost®, Uracilmostaza®, Uramustin®, Uramustine®), хлорметин (Mustargen®), циклофосфамид (Cytoxan®, Neosar®, Clafen®, Endoxan®, Procytox®, Revimmune™), ифосфамид (Mitoxana®), мелфалан (Alkeran®), хлорамбуцил (Leukeran®), пипоброман (Amedel®, Ver-cyte®), триэтиленмеламин (Hemel®, Hexalen®, Hexastat®), триэтилтиофосфорафин, темозоломид (Temodar®), тиотепу (Thioplex®), бусульфан (Busilvex®, Myleran®), кармустин (BiCNU®), ломустин (CeeNU®), стрептозоцин (Zanosar®) и дакарбазин (DTIC-Dome®). Дополнительные иллюстративные алкилирующие средства включают, но не ограничиваются ими, оксалиплатин (Eloxatin®); темозоломид (Temodar® и Temodal®); дактиномицин (также известный как актиномицин D, Cosmegen®); мелфалан (также известный как L-ПАМ, L-сарколизин и фенилаланин мустард, Alkeran®); алтретамин (также известный как гексаметилмеламин (HMM), Hexalen®); кармустин (BiCNU®); бендамустин (Treanda®); бусульфан (Busulfex® и Myleran®); карбоплатин (Paraplatin®); ломустин (также известный как CCNU, CeeNU®); цисплатин (также известный как CDDP, Platinol® и Platinol®-AQ); хлорамбуцил (Leukeran®); циклофосфамид (Cytoxan® и Neosar®); дакарбазин (также известный как DTIC, DIC и имидазол карбоксамид, DTIC-Dome®); алтретамин (также известный как гексаметилмеламин (HMM), Hexalen®); Ifos-famide (Ifex®); преднумустин; прокарбазин (Matulane®); мехлорэтамин (также известный как азотистый мустард, мустин и мехлорэтамин гидрохлорид, Mustargen®); стрептазоцин (Zanosar®); тиотепу (также известную как тиофосфоамид, TESPА и TSPA, Thioplex®); циклофосфамид (Endoxan®, Cytoxan®, Neosar®, Procytox®, Revimmune®); и бендамустин HCl (Treanda®).

Иллюстративные антрациклины включают, например, доксорубин (Adriamycin® и Rubex®); бле-омицин (Iepoxane®); даунорубин (даунорубин гидрохлорид, дауномицин и рубидомицин гидрохлорид, Cerubidine®); даунорубин липосомальный (липосомы даунорубина цитрата, DaunoXome®); митоксантрон (DHAD, Novantone®); эпирубин (Ellence™); идарубин (Idamycin®, Idamycin PFS®); митомицин С (Mutamycin®); гелданамицин; гербимицин; равидомицин и дезацетилравидомицин.

Иллюстративные алкалоиды барвинка, которые можно использовать в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1) включают, но не ограничиваются ими, вино-релбина тартрат (Navelbine®), винкрестин (Oncovin®) и виндезин (Eldisine®); винбластин (также известный как винбластин сульфат, винкалейкобластин и VLB, Alkaban-AQ® и Velban®); и винорелбин (Navelbine®).

Иллюстративные ингибиторы протеасом, которые можно использовать в комбинации с молекулами антител против PD-1, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против TIM-3), включают, но не ограничиваются ими, борте-зомиб (Velcade®); карфилзомиб (PX-171-007, (S)-4-метил-N-((S)-1-(((S)-4-метил-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил)-1-оксопентан-2-ил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)-2-((S)-2-(2-морфолиноацетидамо)-4-фенилбутанамидо)пентанамид); маризомиб (NPI-0052); иксазомиба цитрат (MLN-9708); деланзомиб (CEP-18770); и O-метил-N-[(2-метил-5-тиазолил) карбонил]-L-серил-O-метил-N-[(1S)-2-[(2R)-2-метил-2-оксиранил]-2-оксо-1-(фенилметил)этил]-L-серинамид (ONX-0912).

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу анти-тела против TIM-3, описанную в настоящем описании, используют, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1) в комбинации с ингибитором тирозинкиназы (например, ингибитор рецепторной тирозинкиназы (RTK)). Иллюстративный ингибитор тирозинкиназы включает, но не ограничивается ими, ингибитор каскада эпидермального фактора роста (EGF) (например, ингибитор рецептора эпидермального фактора роста (EGFR)), ингибитор каскада сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) (например, ингибитор рецептора сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGFR) (например, ингибитор VEGFR-1, ингиби-тор VEGFR-2, ингибитор VEGFR-3)), ингибитор каскада тромбоцитарного фактора роста (PDGF) (на-пример, ингибитор рецептора тромбоцитарного фактора роста (PDGFR) (например, ингибитор PDGFR-β)), ингибитор RAF-1, ингибитор KIT и ингибитор RET. В некоторых вариантах осуществления средство против злокачественной опухоли, используемое в комбинации с ингибитором hedgehog, выбран из груп-пы, состоящей из: акситиниба (AG013736), босутиниба (SKI-606), цедираниба (RECENTIN™, AZD2171), дасатиниба (SPRYCEL®, BMS-354825), эрлотиниба (TARCEVA®), гефитиниба (IRESSA®), иматиниба (Gleevec®, CGP57148B, STI-571), лапатиниба (TYKERB®, TYVERB®), лестауртиниба (CEP-701), нера-тиниба (HKI-272), нилотиниба (TASIGNA®), семаксаниба (семаксиниб, SU5416), сунитиниба (SUTENT®, SU11248), тоцераниба (PALLADIA®), вандетаниба (ZACTIMA®, ZD6474), ваталаниба (PTK787, PTK/ZK), трастузумаба (HERCEPTIN®), бевацизумаба (AVASTIN®), ритуксимаба (RITUXAN®), цетуксимаба (ERBITUX®), панитумумаба (VECTIBIX®), ранибизумаба (Lucentis®), ни-

лотиниба (TASIGNA®), сорафениба (NEXAVAR®), алемтузумаба (CAMPATH®), гемтузумаба озагомицина (MYLOTARG®), ENMD-2076, PCI-32765, AC220, довитиниба лактата (TKI258, CHIR-258), BIBW 2992 (TOVOK™), SGX523, PF-04217903, PF-02341066, PF-299804, BMS-777607, АВТ-869, МР470, BIBF1120 (VARGATEF®), AP24534, JNJ-26483327, MGCD265, DCC-2036, BMS- 690154, CEP-11981, тивозаниба (AV-951), OSI-930, MM-121, XL-184, XL-647, XL228, АЕЕ788, AG-490, AST-6, BMS-599626, CUDC-101, PD153035, пелитиниба (ЕКВ-569), вандетаниба (зактима), WZ3146, WZ4002, WZ8040, АВТ-869 (линифаниб), АЕЕ788, AP24534 (понатиниб), AV-951 (тивозаниб), акситиниба, BAY 73-4506 (рего-рафениб), биваниба аланината (BMS-582664), бриваниба (BMS- 540215), цедираниба (AZD2171), CHIR-258 (довитиниба), CP673451, CYC116, E7080, Ki8751, маситиниба (AB1010), MGCD-265, мотесаниба дифосфата (AMG-706), МР-470, OSI-930, пазопаниба гидрохлорида, PD173074, сорафениба тозилата (Bay 43-9006), SU 5402, TSU-68 (SU6668), ваталаниба, XL880 (GSK1363089, EXEL-2880). Отдельные ингибиторы тирозинкиназы выбраны из сунитиниба, эрлотиниба, гефитиниба или сорафениба.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, описанную в настоящем описании, используют, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), в комбинации с ингибиторами рецептора сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF), включая, но не ограничиваясь ими, бевацизумаб (Avastin®), акситиниб (Inlyta®); бриваниба аланинат (BMS-582664, (S)-((R)-1-(4-(4-Фтор-2-метил-1Н-индол-5-илокси)-5-метилпирроло[2,1-f][1,2,4]триазин-6-илокси)пропан-2-ил)2-аминопропаноат); сорафениб (Nexavar®); пазопаниб (Votrient®); сунитиниба малат (Sutent®); цедираниб (AZD2171, CAS 288383-20-1); варгатеф (BIBF1120, CAS 928326-83-4); форотиниб (GSK1363089); телатиниб (BAY57-9352, CAS 332012-40-5); апатиниб (YN968D1, CAS 811803-05-1); иматиниб (Gleevec®); понатиниб (AP24534, CAS 943319-70-8); тивозаниб (AV951, CAS 475108-18-0); рего-рафениб (BAY73-4506, CAS 755037-03-7); ваталаниба дигидрохлорид (PTK787, CAS 212141-51-0); бри-ваниб (BMS-540215, CAS 649735-46-6); вандетаниб (Caprelsa® или AZD6474); мотесаниба дифосфат (AMG706, CAS 857876-30-3, N-(2,3-дигидро-3,3-диметил-1Н-индол-6-ил)-2-[(4-пиридинилметил)амино]-3-пиридинкарбоксамид, описанный в публикации РСТ № WO02/066470); довитиниб димолочной кислоты (TKI258, CAS 852433-84-2); линфаниб (ABT869, CAS 796967-16-3); кабозантиниб (XL184, CAS 849217-68-1); лестауртиниб (CAS 111358-88-4); N-[5-[[[5-(1,1-диметилэтил)-2-оксазолил]метил]тио]-2-тиазолил]-4-пиперидинкарбоксамид (BMS38703, CAS 345627-80-7); (3R,4R)-4-амино-1-((4-((3-метоксифенил)амино)пирроло[2,1-f][1,2,4]триазин-5-ил)метил)пиперидин-3-ол (BMS690514); N-(3,4-дихлор-2-фторфенил)-6-метокси-7-[[[3α,5β,6α)-октагидро-2-метилциклопента[с]пиррол-5-ил]метокси]-4-хиназолинамин (XL647, CAS 781613-23-8); 4-метил-3-[[1-метил-6-(3-пиридинил)-1Н-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4-ил]амино]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид (BHG712, CAS 940310-85-0) и афлибер-цепта (Eylea®).

Иллюстративные антитела против VEGF включают, но не ограничиваются ими, моноклональное антитело, которое связывается с тем же эпитопом, что и моноклональное антитело против VEGF A4.6.1, продуцируемое гибридомой ATCC HB 10709; рекомбинантное гуманизованное моноклональное антитело против VEGF, полученное согласно Presta et al. (1997) Cancer Res. 57:4593-4599. В одном варианте осуществления антитело против VEGF представляет собой бевацизумаб (BV), также известный как ρhuMAb VEGF или AVASTIN®. Оно содержит мутантные каркасные области IgG1 человека и антиген-связывающие определяющие комплементарность области из моноклонального антитела мыши против hVEGF A.4.6.1, которое блокирует связывание VEGF человека с его рецепторами.

Бевацизумаб и другие гуманизованные антитела против VEGF, кроме того, описаны в патенте США № 6884879, выданном 26 февраля 2005 года. Дополнительные антитела включают антитела серии G6 или B20 (например, G6-31, B20-4.1), как описано в публикации РСТ № WO 2005/012359, публикации РСТ № WO 2005/044853, содержание этих патентных заявок включено в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Для дополнительных антител см. патенты США № 7060269, 6582959, 6703020, 6054297, WO98/45332, WO96/30046, WO94/10202, EP0666868B1, публикации патентных заявок США № 2006009360, 20050186208, 20030206899, 20030190317, 20030203409 и 20050112126; и Popkov et al., Journal of Immunological Methods 288: 149-164 (2004). Другие антитела включают антитела, которые связываются с функциональным эпитопом на VEGF человека, содержащим остатки F17, M18, D19, Y21, Y25, Q89, 191, K101, E103 и C104 или альтернативно содержащим остатки F17, Y21, Q22, Y25, D63, 183 и Q89.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, описанную в настоящем описании, используют, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), в комбинации с ингибитором PI3K. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой ингибитор изоформ дельта и гамма PI3K. Иллюстративные ингибиторы PI3K, которые можно использовать в комбинации, описаны, например, в WO 2010/036380, WO 2010/006086, WO 09/114870, WO 05/113556: GSK 2126458, GDC-0980, GDC-0941, Sanofi XL147, XL756, XL147, PF-46915032, BKM 120, CAL-101, CAL 263, SF1126, PX-886 и двойной ингибитор PI3K (например, Novartis BEZ235).

В некоторых вариантах осуществления молекулы антител против TIM-3, описанные в настоящем описании, используют, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), в комбинации с ингибитором mTOR, например, одним или несколькими ингибиторами mTOR, выбранными из одного или нескольких из рапамицина, темсиролимуса (TORISEL®), AZD8055, BEZ235, BGT226, XL765, PF-4691502, GDC0980, SF1126, OSI-027, GSK1059615, KU-0063794, WYE-354, паломида 529 (P529), PF-04691502 или PKI-587, ридафоролимуса (прежде известного как деферолимус, (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[[1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-дигидрокси-19,30-диметокси-15,17,21,23,29,35-гексаметил-2,3,10,14,20-пентаоксо-11,36-диокса-4-азатрицикло[30, 3, 1, 0^{4,9}]гексатриаконта-16, 24,26,28-тетраен-12-ил]пропил]-2-метоксициклогексилдиметилфосфинат, также известный как AP23573 и MK8669 и описанный в публикации PCT № WO03/064383); эверолимуса (Afinitor® или RAD001); рапамицина (AY22989, Sirolimus®); симапимода (CAS 164301-51-3); эмсиролимуса, (5-{2,4-бис[(3S)-3-метилморфолин-4-ил]пиридо[2,3-d]пиримидин-7-ил}-2-метоксифенил)метанола (AZD8055); 2-амино-8-[транс-4-(2-гидроксизтоксид)циклогексил]-6-(6-метокси-3-пиридинил)-4-метилпиридо[2,3-d]пиримидин-7(8H)-она (PF04691502, CAS 1013101-36-4); и N²-[1,4-диоксо-4-[[4-(4-оксо-8-фенил-4H-1-бензопиран-2-ил)морфолиний-4-ил]метокси]бутил]-L-аргинилглицил-L-α-аспартил-L-серина, внутренняя соль (SF1126, CAS 936487-67-1) и XL765.

В некоторых вариантах осуществления молекулы антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, описанную в настоящем описании, используют, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), в комбинации с ингибитором BRAF, например GSK211843 6, RG7204, PLX4032, GDC-0879, PLX4720 и сорафениба тозилатом (Bay 43-9006).

В некоторых вариантах осуществления молекулы антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, описанную в настоящем описании, используют, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), в комбинации с ингибитором MEK. В некоторых вариантах осуществления комбинацию антитела против TIM-3 и ингибитора MEK используют для лечения злокачественной опухоли (например, злокачественная опухоль, описанная в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль, которую лечат комбинацией, выбрана из меланомы, рака ободочной и прямой кишки, немелкоклеточного рака легкого, рака яичника, рака молочной железы, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, гематологической злокачественной опухоли или почечноклеточного рака. В определенных вариантах осуществления злокачественная опухоль включает мутацию BRAF (например, мутация V600E BRAF), BRAF дикого типа, KRAS дикого типа или активирующую мутацию KRAS. Злокачественная опухоль может быть на ранней, промежуточной или поздней стадии. Любой ингибитор MEK можно использовать в комбинации, включающей, но не ограничивающейся ими, ARRY-142886, G02442104 (также известный как GSK1120212), RDEA436, RDEA119/BAY 869766, AS703026, G00039805 (также известный как AZD-6244 или селуметиниб), BIX 02188, BIX 02189, CI-1040 (PD-184352), PD0325901, PD98059, U0126, GDC-0973 (метанон, [3,4-дифтор-2-[(2-фтор-4-йодфенил)амино]фенил][3-гидрокси-3-(25)-2-пиперидинил-1-азетидинил]-), G-38963, G02443714 (также известный как AS703206) или их фармацевтически приемлемую соль или сольват. Дополнительные примеры ингибиторов MEK описаны в WO 2013/019906, WO 03/077914, WO 2005/121142, WO 2007/04415, WO 2008/024725 и WO 2009/085983, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления молекулы антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, описанную в настоящем описании, используют, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), в комбинации с ингибитором JAK2, например CEP-701, INCB18424, CP-690550 (тасоцитиниб).

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, описанную в настоящем описании, используют, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1), в комбинации с паклитакселом или средством на основе паклитаксела, например TAXOL®, связанным с белком паклитакселом (например, ABRAXANE®). Иллюстративные средства на основе паклитаксела включают, но не ограничиваются ими, связанный с альбумином паклитаксел в форме наночастиц (ABRAXANE, выпускаемый в продажу Abraxis Bioscience), связанный с докозагексаеновой кислотой паклитаксел (ДНА-паклитаксел, таксопрексин, выпускаемый в продажу Protarga), связанный с полиглутаматом паклитаксел (PG-паклитаксел, паклитаксел полиглумекс, CT-2103, XYOTAX, выпускаемый в продажу Cell Therapeutic), активируемое опухолью пролекарство (TAP), ANG105 (Angiorer-2, связанный с тремя молекулами паклитаксела, выпускаемый в продажу ImmunoGen), паклитаксел-ЕС-1 (паклитаксел, связанный с распознающим erbB2 пептидом ЕС-1; см. Li et al., Biopolymers (2007) 87:225-230), и конъюгированный с глюкозой паклитаксел (например, 2'-паклитаксел метил-2-глюкопиранозилсукцинат, см. Liu et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2007) 17:617-620).

Лучевую терапию можно проводить посредством одного из нескольких способов или комбинации способов, включая, но не ограничиваясь ими, терапию внешним пучком, внутреннюю лучевую терапию, облучение посредством имплантата, стереотактическую радиохирургическую операцию, системную лучевую терапию, лучевую терапию и постоянную или временную интерстициальную брахитерапию. Термин "брахитерапия" относится к лучевой терапии, доставляемой пространственно ограниченным радиоактивным материалом, помещенным в организм или вблизи опухоли или другой области пролиферативного заболевания ткани. Подразумевают, что термин включает, но не ограничивается ими, воздействие радиоактивных изотопов (например, At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32 и радиоактивные изотопы Lu). Подходящие источники радиации для применения в качестве средства для обработки клеток по настоящему изобретению включают как твердые вещества, так и жидкости. В качестве неограничивающего примера источником радиационного излучения может быть радионуклид, такой как I-125, I-131, Yb-169, Ir-192 в качестве твердого источника, I-125 в качестве твердого источника или другие радионуклиды, которые испускают фотоны, бета-частицы, гамма-излучение и другие терапевтические лучи. Радиоактивный материал также может представлять собой жидкость, изготовленную из любого раствора радионуклида(ов), например раствор I-125 или I-131, или радиоактивную жидкость можно получать с использованием взвеси подходящей жидкости, содержащей мелкие частицы твердых радионуклидов, таких как Au-198, Y-90. Более того, радионуклид(ы) может быть выполнен в виде геля или радиоактивных микросфер.

Молекулы антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), можно вводить в комбинации с одним или несколькими из существующих способов лечения злокачественной опухоли, включая, но не ограничиваясь ими: хирургическую операцию; лучевую терапию (например, терапия внешним пучком, которая вовлекает трехмерную конформную лучевую терапию, где поле облучения представляет собой рассчитанное локальное облучение (например, облучение, направленное на заранее выбранную мишень или орган) или сфокусированное облучение). Сфокусированное облучение может быть выбрано из группы, состоящей из стереотактической радиохирургии, фракционированной стереотактической радиохирургии и лучевой терапии с модулируемой интенсивностью. Сфокусированное облучение может иметь источник излучения, выбранный из группы, состоящей из пучка частиц (протонный), кобальта-60 (фотонный) и линейного ускорителя (рентгеновский), например, как описано в WO 2012/177624.

В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), вводят в комбинации с антителом против иммуноглобулин-подобных рецепторов киллерных клеток (также обозначаемое в настоящем описании как "антитело против KIR"), общим антителом против KIR или антителом против NKG2D и антителом против MICA. В определенных вариантах осуществления комбинацию молекулы антитела против TIM-3 и антитела против KIR, общего антитела против KIR или антитела против NKG2D, описанного в настоящем описании, используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, солидная опухоль, например, развернутая солидная опухоль).

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), вводят в комбинации с клеточной иммунотерапией (например, провендж (например, сипулейцел)), и необязательно в комбинации с циклофосфамидом. В определенных вариантах осуществления комбинацию молекулы антитела против TIM-3, провенджа и/или циклофосфамида используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, рак предстательной железы, например, развернутый рак предстательной железы).

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), вводят в комбинации с вакциной, например вакциной против карциномы печени на основе дендритных клеток (DC-RCC). В определенных вариантах осуществления комбинацию молекулы антитела против TIM-3 и вакцины DC-RCC используют для лечения злокачественной опухоли, например злокачественной опухоли, как описано в настоящем описании (например, карцинома печени, например, метастазирующий почечноклеточный рак (RCC) или светлоклеточный почечноклеточный рак (CCRCC)).

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), вводят в комбинации с химиотерапией и/или иммунотерапией. Например, молекулу антитела против TIM-3 можно использовать для лечения миеломы, отдельно или в комбинации с одним или несколькими из: химиотерапии или других средств против злокачественной опухоли (например, аналоги талидомида, например, леналидомид), антитела против PD-1, обработанных опухолевым антигеном дендритных клеток, слитых (например, посредством электрослияния) опухолевых клеток и дендритных клеток или вакцинации идиотипом иммуноглобулина, продуцированным злокачественными плазмацитами. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с антителом против PD-1 для лечения миеломы, например множественной миеломы.

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), используют в комбинации с химиотерапией для лечения рака легкого, например немелкоклеточного рака легкого. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют с терапией платиновыми дублетами для лечения рака легкого.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), используют для лечения рака почки, например почечноклеточного рака (RCC) (например, светлоклеточного почечноклеточного рака (CCRCC) или метастазирующего RCC. Молекулу антитела против TIM-3 можно вводить в комбинации с одним или несколькими из: стратегии на иммунной основе (например, интерлейкин-2 или интерферон- α), направленного средства (например, ингибитор VEGF, такой как моноклональное антитело к VEGF; ингибитор тирозинкиназы VEGF, такой как сунитиниб, сорафениб, акситиниб и пазопаниб; ингибитор на основе РНК-и) или ингибитор нижеследующего медиатора передачи сигнала VEGF, например, ингибитор мишени рапамицина (mTOR) у млекопитающих, например, эверолимус и темсиrolimus).

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, описанными в настоящем описании, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения рака поджелудочной железы включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство, например паклитаксел или средство на основе паклитаксела (например, состав паклитаксела, такой как TAXOL, стабилизированный альбумином состав паклитаксела в форме наночастиц (например, ABRAXANE) или липосомальный состав паклитаксела); гемцитабин (например, гемцитабин отдельно или в комбинации с AXP107-11); другие химиотерапевтические средства, такие как оксалиплатин, 5-фторурацил, капецитабин, рубитекан, эпирубицина гидрохлорид, NC-6004, цисплатин, доцетаксел (например, TAXOTERE), митомицин С, ифосфамид; интерферон; ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб, панитумумаб, цетуксимаб, нимотузумаб); ингибитор рецептора HER2/neu (например, трастузумаб); двойной ингибитор киназ (например, босутиниб, саракатиниб, лапатиниб, вандетаниб); мультикиназный ингибитор (например, сорафениб, сунитиниб, XL184, пазопаниб); ингибитор VEGF (например, бевацизумаб, AV-951, бриваниб); радиоиммунотерапию (например, XR303); вакцину против злокачественной опухоли (например, GVAX, пептид сурвивин); ингибитор COX-2 (например, целекоксиб); ингибитор рецептора IGF-1 (например, AMG 479, МК-0646); ингибитор mTOR (например, эверолимус, темсиrolimus); ингибитор IL-6 (например, CNTO 328); ингибитор циклин-зависимой киназы (например, P276-00, UCN-01); направленное на измененный метаболизм энергии (AEMD) соединение (например, CPI-613); ингибитор HDAC (например, вориностат); агонист рецептора 2 TRAIL (TR-2) (например, конатумумаб); ингибитор MEK (например, AS703026, селуметиниб, GSK1120212); двойной ингибитор киназ Raf/MEK (например, RO5126766); ингибитор передачи сигнала Notch (например, MK0752); слитый белок моноклональное антитело-антитело (например, L19IL2); куркумин; ингибитор HSP90 (например, танеспимицин, STA-9090); rIL-2; демилейкин дифтитокс; ингибитор топоизомеразы I (например, иринотекан, PER02); статины (например, симвастатин); ингибитор фактора VIIa (например, PCI-27483); ингибитор АКТ (например, RX-0201); активируемое гипоксией пролекарство (например, TH-302); метформина гидрохлорид, ингибитор гамма-секретазы (например, RO4929097); ингибитор рибонуклеотид-редуктазы (например, 3-AP); иммунотоксин (например, HuC242-DM4); ингибитор PARP (например, KU-0059436, велипариб); ингибитор CTLA-4 (например, CP-675,206, ипилимумаб); терапию AdV-tk; ингибитор протеасом (например, бортезомиб (велкейд), NPI-0052); тиазолидиндион (например, пиоглитазон); NPC-1C; ингибитор Auroга-киназы (например, R763/AS703569), ингибитор CTGF (например, FG-3019); siG12D LODER; и лучевую терапию (например, томотерапия, сетеротактическое облучение, протонная терапия), хирургическую операцию и их комбинацию. В определенных вариантах осуществления комбинацию паклитаксела или средства на основе паклитаксела и гемцитабина можно использовать с молекулами антител против TIM-3, описанными в настоящем описании.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения мелкоклеточного рака легкого включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, этопозид, карбоплатин, цисплатин, оксалиплатин, иринотекан, топотекан, гемцитабин, липосомальный SN-38, бендамустин, темозоломид, белотекан, NK012, FR901228, флавопиридол); ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб, gefитиниб, цетуксимаб, панитумумаб); мультикиназный ингибитор (например, сорафениб, сунитиниб); ингибитор VEGF (например, бевацизумаб, вандетаниб); вакцину против злокачественной опухоли (например, GVAX); ингибитор Bcl-2 (например, облимержен натрий, АВТ-263); ингибитор протеасом (например, бортезомиб (велкейд), NPI-0052), паклитаксел или средство на основе паклитаксела; доцетаксел; ингибитор рецептора IGF-1 (например, AMG 479); ингибитор HGF/SF (например, AMG 102, МК-0646); хлороквин; ингибитор Auroга-киназы (например, MLN8237); радиоиммунотерапию (например, TF2); ингибитор HSP90 (например, танеспимицин, STA-9090); ингибитор mTOR (на-

пример, эверолимус); биспецифическое антитело проти vEr-CAM/CD3 (например, MT110); ингибитор СК-2 (например, CX-4945); ингибитор HDAC (например, белинонат); антагонист SMO (например, BMS 833923); пептидную вакцину против злокачественной опухоли и лучевую терапию (например, лучевая терапия с модулируемой интенсивностью (IMRT), гипофракционированная лучевая терапия, направляемая гипоксией лучевая терапия), хирургическую операцию и их комбинации.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения немелкоклеточного рака легкого включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, винорелбин, цисплатин, доцетаксел, пеметрексед динатрий, этопозид, гемцитабин, карбоплатин, липосомальный SN-38, TLK286, темозоломид, топотекан, пеметрексед динатрий, азацитидин, иринотекан, тегафур-гимерацил-отерацил калий, сапатитабин); ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб, gefitinib, цетуксимаб, панитумумаб, нецитумумаб, PF-00299804, нимотузумаб, RO5083945)), ингибитор MET (например, PF-02341066, ARQ 197), ингибитор PI3K-киназы (например, XL147, GDC-0941), двойной ингибитор киназ Raf/MEK (например, RO5126766), двойной ингибитор киназ PI3K/mTOR (например, XL765), ингибитор SRC (например, дасатиниб), двойной ингибитор (например, BIBW 2992, GSK1363089, ZD6474, AZD0530, AG-013736, лапатиниб, MEHD7945A, линифаниб), мультикиназный ингибитор (например, сорафениб, сунитиниб, пазопаниб, AMG 706, XL184, MGCD265, BMS-690514, R935788), ингибитор VEGF (например, эндостар, эндостатин, бевацизумаб, цедираниб, BIBF 1120, акситиниб, тивозаниб, AZD2171), вакцину против злокачественной опухоли (например, липосомальная вакцина BLP25, GVAX, рекомбинантная ДНК и аденовирус, экспрессирующие белок L523S), ингибитор Vcl-2 (например, облимержен натрий), ингибитор протеасом (например, бортезомиб, карцилзомиб, NPI-0052, MLN9708), паклитаксел или средство на основе паклитаксела, доцетаксел, ингибитор рецептора IGF-1 (например, циксутумумаб, MK-0646, OSI 906, CP-751,871, BII022), гидроксиклороквин, ингибитор HSP90 (например, танеспимицин, STA-9090, AU922, XL888), ингибитор mTOR (например, эверолимус, темсиролиму, ридафоролимус), биспецифическое антитело против Er-CAM-/CD3 (например, MT110), ингибитор СК-2 (например, CX-4945), ингибитор HDAC (например, MS 275, LBH589, вориностат, вальпроевая кислота, FR901228), ингибитор DHFR (например, пралатрексад), ретиноид (например, бексаротен, третинин), конъюгат антитело-лекарственное средство (например, SGN-15), бисфосфонат (например, золедроновая кислота), вакцину против злокачественной опухоли (например, белагенпуматуцел-Л), низкомолекулярный гепарин (LMWH) (например, тинзапарин, эноксапарин), GSK1572932A, мелатонин, талактоферрин, димесну, ингибитор топоизомераз (например, амрубицин, этопозид, каренитецин), нельфинавир, циленгитид, ингибитор ErbB3 (например, MM-121, U3-1287), ингибитор сурвивина (например, YM155, LY2181308), эрибулин мезилат, ингибитор COX-2 (например, целекоксиб), пегфилграстим, ингибитор Polo-подобной киназы 1 (например, BI 6727), агонист рецептора 2 TRAIL (TR-2) (например, CS-1008), конъюгат пептид CNGRC (SEQ ID NO: 225)-TNF-альфа, дихлорацетат (DCA), ингибитор HGF (например, SCH 900105), SAR240550, агонист PPAR-гамма (например, CS-7017), ингибитор гамма-секретазы (например, RO4929097), эпигенетическую терапию (например, 5-азацитидин), нитроглицерин, ингибитор MEK (например, AZD6244), ингибитор циклин-зависимой киназы (например, UCN-01), холестерин-Fus1, антитубулиновое средство (например, E7389), ингибитор фарнезил-ОН-трансферазы (например, лонафарниб), иммунотоксин (например, BV-10901, SSI (dsFv) PE38), фондапаринукс, средство, разрушающее сосуды (например, AVE8062), ингибитор PD-L1 (например, MDX-1105, MDX-1106), бета-глюкан, NGR-hTNF, EMD 521873, ингибитор MEK (например, GSK1120212), аналог эпотилона (например, иксабепилон), ингибитор кинезинового веретена (например, 4SC-205), нацеленное на теломеры средство (например, KML-001), ингибитор каскада P70 (например, LY2584702), ингибитор АКТ (например, MK-2206), ингибитор ангиогенеза (например, леналидомид), ингибитор передачи сигнала Notch (например, OMP-21M18), лучевую терапию, хирургическую операцию и их комбинации.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекула антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения рака яичника включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, паклитаксел или средство на основе паклитаксела; доцетаксел; карбоплатин; гемцитабин; доксорубицин; топотекан; цисплатин; иринотекан, TLK286, ифосфамид, олапариб, оксалиплатин, мелфалан, пеметрексед динатрий, SJG-136, циклофосфамид, этопозид, децитабин); антагонист грелина (например, AEZS-130), иммунотерапию (например, APC8024, ореговумаб, OPT-821), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб), двойной ингибитор (например, E7080), мультикиназный ингибитор (например, AZD0530, JI-101, сорафениб, сунитиниб, пазопаниб), ON 01910.Na), ингибитор VEGF (например, бевацизумаб, BIBF 1120, цедираниб, AZD2171), ингибитор PDGFR (например, IMC-3G3), паклитаксел, ингибитор топоизомеразы (например, каренитецин, иринотекан), ингибитор HDAC (например, вальпроат, вориностат), ингибитор рецептора фолатов (например, фарлетузумаб), ингибитор ангиопоэтина (например, AMG 386), аналог эпотилона (например, иксабепилон), ингибитор протеасом (например, карфилзомиб), ингибитор рецептора IGF-1 (например, OSI 906, AMG 479), ингибитор PARP (например, велипариб, AG014699, инипариб,

МК-4827), ингибитор Аутога-киназы (например, MLN8237, ENMD-2076), ингибитор ангиогенеза (например, леналидомид), ингибитор DHFR (например, пралатрексат), радиоиммунотерапевтическое средство (например, Hu3S193), статин (например, ловастатин), ингибитор топоизомеразы 1 (например, NKTR-102), вакцину против злокачественной опухоли (например, вакцина на основе синтетических длинных пептидов p53, вакцина на основе аутологичных ОС-DC), ингибитор mTOR (например, темсиролимус, эверолимус), ингибитор BCR/ABL (например, иматиниб), антагонист рецептора ET-A (например, ZD4054), агонист рецептора 2 TRAIL (TR-2) (например, CS-1008), ингибитор HGF/SF (например, AMG 102), EGEN-001, ингибитор Polo-подобной киназы 1 (например, BI 6727), ингибитор гамма-секретазы (например, RO4929097), ингибитор Wee-1 (например, МК-1775), антитубулиновое средство (например, винорелбин, E7389), иммунотоксин (например, денилейкин дифтитокс), SB-485232, средство, разрушающее сосуды (например, AVE8062), ингибитор интегрин (например, EMD 525797), ингибитор кинезинового веретена (например, 4SC-205), ревлимид, ингибитор HER2 (например, MGH22), ингибитор EgrB3 (например, MM-121), лучевую терапию; и их комбинации.

В одном иллюстративном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1) используют для лечения миеломы, отдельно или в комбинации с одним или несколькими из: химиотерапии или других средств против злокачественной опухоли (например, аналоги талидомида, например, леналидомид), HSCT (Cook, R. (2008) *J Manag Care Pharm.* 14(7 Suppl):19-25), антитела против TIM3 (Hallett, WHD et al. (2011) *J of American Society for Blood and Marrow Transplantation* 17(8):1133-145), обработанных опухолевым антигеном дендритных клеток, слитых (например, посредством электрослияния) опухолевых клеток и дендритных клеток или вакцинации идиотипом иммуноглобулина, продуцируемым злокачественными плазмацитами (рассмотрено в Yi, Q. (2009) *Cancer J.* 15(6):502-10).

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), используют для лечения рака почки, например почечноклеточного рака (RCC) или метастазирующего RCC. Молекулу антитела против TIM-3 можно вводить в комбинации с одним или несколькими из: стратегии на иммунной основе (например, интерлейкин-2 или интерферон- α), направленного средства (например, ингибитор VEGF, такой как моноклональное антитело к VEGF, например бевацизумаб (Rini, V.I. et al. (2010) *J. Clin. Oncol.* 28(13):2137-2143)); ингибитор тирозинкиназы VEGF, такой как сунитиниб, сорафениб, акситиниб и пазопаниб (рассмотрено в Pal. S.K. et al. (2014) *Clin. Advances in Hematology & Oncology* 12(2):90-99); ингибитор РНК-и) или ингибитор нижеследующего медиатора передачи сигнала VEGF, например, ингибитор мишени рапамицина (mTOR) у млекопитающих, например эверолимус и темсиролимус (Hudes, G. et al. (2007) *N. Engl. J. Med.* 356(22):2271-2281, Motzer, R.J. et al. (2008) *Lancet* 372:449-456).

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, описанными в настоящем описании, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения хронического миелогенного лейкоза (AML) согласно изобретению включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, цитарабин, гидроксимочевина, клофарабин, мелфалан, тиотепа, флударабин, бусульфид, этопозид, кордицепин, пентостатин, капецитабин, азацитидин, циклофосфамид, кладрибин, топотекан), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор BCR/ABL (например, иматиниб, нилотиниб), ON 01910.Na, двойной ингибитор (например, дасатиниб, босутиниб), мультикиназный ингибитор (например, DCC-2036, понатиниб, сорафениб, сунитиниб, RGB-286638)), интерферон-альфа, стероиды, апоптотическое средство (например, омацетаксин мелесукцинат), иммунотерапию (например, аллогенные CD4+ Th1-подобные Т-клетки памяти/связанное с микрочастицами антитело против CD3/против CD28, аутологичные индуцируемые цитокинами киллерные клетки (CIK), AHN-12), нацеленное на CD52 средство (например, алемтузумаб), ингибитор HSP90 (например, танеспимицин, STA-9090, AUY922, XL888), ингибитор mTOR (например, эверолимус), антагонист SMO (например, BMS 833923), ингибитор рибонуклеотидредуктазы (например, 3-AP), ингибитор JAK-2 (например, INCB018424), гидроксихлороквин, ретиноид (например, фенретинид), ингибитор циклин-зависимой киназы (например, UCN-01), ингибитор HDAC (например, белиностат, вориностат, JNJ-26481585), ингибитор PARP (например, велипариб), антагонист MDM2 (например, RO5045337), ингибитор киназы Аутога В (например, TAK-901), радиоиммунотерапию (например, меченное актинием 225 антитело против CD33 HuM195), ингибитор Hedgehog (например, PF-04449913), ингибитор STAT3 (например, OPB-31121), KB004, вакцину против злокачественной опухоли (например, AG858), трансплантацию костного мозга, трансплантацию стволовых клеток, лучевую терапию и их комбинации.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, флударабин, циклофосфамид, доксорубин, винкристин, хлорамбуцил, бендамустин, хлорамбуцил, бусульфид, гем-

цитабин, мелфалан, пентостатин, митоксантрон, 5-азациитидин, пеметрексед динатрий), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, эрлотиниб), ингибитор ВТК (например, PCI-32765), мультикиназный ингибитор (например, MGCD265, RGB-286638), нацеленное на CD-20 средство (например, ритуксимаб, офатумумаб, RO5072759, LFB-R603), нацеленное на CD52 средство (например, алемтузумаб), преднизолон, дарбэпозтин-альфа, леналидомид, ингибитор Vcl-2 (например, АВТ-263), иммунотерапию (например, аллогенные CD4+ Th1-подобные Т-клетки памяти/связанное с микрочастицами антитело против CD3/против CD28, аутологичные индуцируемые цитокинами киллерные клетки (CIK)), ингибитор HDAC (например, вориностат, вальпроевая кислота, LBH589, JNJ-26481585, AR-42), ингибитор XIAP (например, AEG35156), нацеленное на CD-74 средство (например, милатузумаб), ингибитор mTOR (например, эверолимус), AT-101, иммунотоксин (например, CAT-8015, анти-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2)), нацеленное на CD37 средство (например, TRU-016), радиоиммунотерапию (например, 131-тозитумомаб), гидроксихлороквин, перифозин, ингибитор SRC (например, дасатиниб), талидомид, ингибитор PI3K-дельта (например, CAL-101), ретиноид (например, фенретинид), антагонист MDM2 (например, RO5045337), плериксафор, ингибитор Аутога-киназы (например, MLN8237, TAK-901), ингибитор протеасом (например, бортезомиб), нацеленное на CD-19 средство (например, MEDI-551, MOR208), ингибитор MEK (например, АВТ-348), ингибитор JAK-2 (например, INCB018424), активируемое гипоксией пролекарство (например, TH-302), паклитаксел или средство на основе паклитаксела, ингибитор HSP90, ингибитор АКТ (например, МК2206), ингибитор HMG-CoA (например, симвастатин), GNKG186, лучевую терапию, трансплантацию костного мозга, трансплантацию стволовых клеток и их комбинацию.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, описанными в настоящем описании, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения острого лимфоцитарного лейкоза (ALL) включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, преднизолон, дексаметазон, винкристин, аспарагиназа, даунорубин, циклофосфамид, цитарабин, этопозид, тиогуанин, меркаптопурин, клофарабин, липосомальный аннамицин, бусульфид, этопозид, капецитабин, децитабин, азацитидин, топотекан, темозоломид), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор BCR/ABL (например, иматиниб, нилотиниб), ON 01910.Na, мультикиназный ингибитор (например, сорафениб)), нацеленное на CD-20 средство (например, ритуксимаб), нацеленное на CD52 средство (например, алемтузумаб), ингибитор HSP90 (например, STA-9090), ингибитор mTOR (например, эверолимус, рапамицин), ингибитор JAK-2 (например, INCB018424), ингибитор рецептора HER2/neu (например, трастузумаб), ингибитор протеасом (например, бортезомиб), метотрексат, аспарагиназу, нацеленное на CD-22 средство (например, эпратузумаб, инотузумаб), иммунотерапию (например, аутологичные индуцируемые цитокином киллерные клетки (CIK), AHN-12), биланатумомаб, ингибитор циклин-зависимой киназы (например, UCN-01), нацеленное на CD45 средство (например, BC8), антагонист MDM2 (например, RO5045337), иммунотоксин (например, CAT-8015, DT2219ARL), ингибитор HDAC (например, JNJ-26481585), JVRS-100, паклитаксел или средство на основе паклитаксела, ингибитор STAT3 (например, OPB-31121), ингибитор PARP (например, велипариб), EZN-2285, лучевую терапию, стероид, трансплантацию костного мозга, трансплантацию стволовых клеток и их комбинацию.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, описанными в настоящем описании, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения острого миелоидного лейкоза (AML) включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, цитарабин, даунорубин, идарубин, клофарабин, децитабин, восароксин, азацитидин, клофарабин, рибавирин, CPX-351, треосульфид, элацитарабин, азацитидин), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор BCR/ABL (например, иматиниб, нилотиниб), ON 01910.Na, мультикиназный ингибитор (например, мидостаурин, SU 11248, квизартиниб, сорафениб)), иммунотоксин (например, гемтузумаб озагомицин), слитый белок DT388IL3, ингибитор HDAC (например, вориностат, LBH589), плериксафор, ингибитор mTOR (например, эверолимус), ингибитор SRC (например, дасатиниб), ингибитор HSP90 (например, STA-9090), ретиноид (например, бексаротен, ингибитор Аутога-киназы (например, BI 811283), ингибитор JAK-2 (например, INCB018424), ингибитор Polo-подобной киназы (например, BI 6727), ценерсен, нацеленное на CD45 средство (например, BC8), ингибитор циклин-зависимой киназы (например, UCN-01), антагонист MDM2 (например, RO5045337), ингибитор mTOR (например, эверолимус), LY573636-натрий, ZRx-101, MLN4924, леналидомид, иммунотерапию (например, AHN-12), гистамина дигидрохлорид, лучевую терапию, трансплантацию костного мозга, трансплантацию стволовых клеток и их комбинацию.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, описанными в настоящем описании, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-1 или против PD-L1), для лечения множественной миеломы (MM) включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, мелфалан, амифостин, циклофосфамид, доксорубин, клофарабин, бендамустин, флударабин, адриамицин, SyB L-0501), талидомид, леналидомид, дексаметазон, преднизон, помалидомид, ингибитор протеасом (например, бортезомиб, карфилзомиб, MLN9708), вакцину против злокачественной опухоли

(например, GVAX), нацеленное на CD-40 средство (например, SGN-40, CHIR-12.12), перифозин, золедроновую кислоту, иммунотерапию (например, MAGE-A3, NY-ESO-1, HuMax-CD38), ингибитор HDAC (например, вориностат, LBH589, AR-42), аплидин, ингибитор циклин-зависимой киназы (например, PD-0332991, динациклиб), триоксид мышьяка, CB3304, ингибитор HSP90 (например, KW-2478), ингибитор тирозинкиназы (например, ингибитор EGFR (например, цетуксимаб), мультикиназный ингибитор (например, AT9283)), ингибитор VEGF (например, бевацизумаб), плериксафор, ингибитор MEK (например, AZD6244), IPH2101, аторвастатин, иммунотоксин (например, BV-10901), NPI-0052, радиоиммунотерапевтическое средство (например, иттрий Y90 ибритутомаб тиуксетан), ингибитор STAT3 (например, OPB-31121), MLN4924, ингибитор Aurora-киназы (например, ENMD-2076), IMGN901, ACE-041, ингибитор СК-2 (например, CX-4945), лучевую терапию, трансплантацию костного мозга, трансплантацию стволовых клеток и их комбинацию.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1) для лечения рака предстательной железы включает, но не ограничивается ими, химиотерапевтическое средство (например, доцетаксел, карбоплатин, флударабин), абиратерон, гормональную т (например, флутамид, бикалутамид, нилутамид, ципротерон ацетат, кетоконазол, аминоклутетимид, abarelix, degarelix, леупролид, гозерелин, трипторелин, бузерелин), ингибитор тирозинкиназы (например, dual киназа ингибитор (например, lapatanib), мультикиназный ингибитор (например, сорафениб, сунитиниб)), VEGF ингибитор (например, бевацизумаб), TAK-700, cancer вакцина (например, BPX-101, PEP223), леналидомид, ТОК-001, ингибитор рецептора IGF-1 (например, циксугтумаб), TRC105, ингибитор киназы Aurora A (например, MLN8237), ингибитор протеасом (например, бортезомиб), OGX-011, радиоиммунотерапию (например, HuJ591-GS), ингибитор HDAC (например, вальпроевая кислота, SB939, LBH589), гидроксихлороквин, ингибитор mTOR (например, эверолимус), довининиба лактат, дииндолилметан, эфавиренц, OGX-427, генистеин, IMC-3G3, бафетиниб, CP-675.206, лучевую терапию, хирургическую операцию или их комбинацию.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3 отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1 антитело молекула) для лечения HNSCC включает, но не ограничивается ими, одно или оба из соединения A8, как описано в настоящем описании (или соединения, описанного в публикации PCT № WO 2010/029082) и цетуксимаба (например, эрбитукс, выпускаемый в продажу BMS). В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство (например, соединение A8 или соединение, родственное A8) представляет собой модулятор PI3K, например ингибитор PI3K. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство (например, цетуксимаб) модулирует, например ингибирует, EGFR. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или идентифицирована как имеющая повышенные уровни или активность PI3K или EGFR по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3 отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1) для лечения рака желудка, например рака желудка с высокой MSI и/или EBV+, включает, но не ограничивается ими, соединение A8, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2010/029082). В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство (например, соединение A8 или соединение, родственное A8) представляет собой модулятор PI3K, например ингибитор PI3K. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или идентифицирована как имеющая повышенные уровни или активность PI3K по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1), для лечения рака желудка, например рака желудка с высокой MSI и/или инактивированным RNF43, включает, но не ограничивается ими, соединение A28, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2010/101849). В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство (например, соединение A28 или соединение, родственное A28) представляет собой модулятор, например ингибитор, поркупина. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или идентифицирована как имеющая повышенные уровни или активность поркупина по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1) для лечения стромальной опухоли GI (GIST) включает, но не ограничивается ими, соединение A16, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в публикации PCT № WO 1999/003854). В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство (например, соединение A16 или соединение, родственное A16) представляет собой модулятор, например ингибитор, тирозинкиназы. В некоторых вариантах осуществления злокачественная

опухоль имеет или определено, что она имеет, повышенные уровни или активность тирозинкиназы по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1), для лечения NSCLC, например, плоскоклеточной карциномы или аденокарциномы, включает, но не ограничивается ими, одно или оба из соединения A17, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в патенте США № 7767675 и 8420645) и соединения A23, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2003/077914). В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение A17 или соединение, родственное A17) модулирует, например ингибирует, с-MET. В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение A23 или соединение, родственное A23) модулирует, например ингибирует, Alk. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или определено, что она имеет повышенные уровни или активность одного или обоих из с-MET или Alk по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или идентифицирована как имеющая мутацию в EGFR.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3 отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1) для лечения меланомы (например, меланома NRAS) включает, но не ограничивается ими, одно или оба из соединения A24, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в патентах США № 8415355 и 8685980) и соединения A34, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2003/077914). В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение A24 или соединение, родственное A24) модулирует, например ингибирует, одно или несколько из JAK и CDK4/6. В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение A34 или соединение, родственное A34) модулирует, например ингибирует, MEK. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или идентифицирована как имеющая повышенные уровни или активность одного или нескольких из JAK, CDK4/6 и MEK по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3, отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1), для лечения меланомы (например, меланома NRAS) включает, но не ограничивается ими, одно или оба из соединения A29, как описано в настоящем описании (или соединения, описанного в публикации PCT № WO 2011/025927) и соединения A34, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2003/077914). В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение A29 или соединение, родственное A29) модулирует, например ингибирует, BRAF. В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение A34 или соединение, родственное A34) модулирует, например ингибирует, MEK. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или идентифицирована как имеющая повышенные уровни или активность одного или обоих из BRAF и MEK по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3 отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1) для лечения плоскоклеточного NSCLC включает, но не ограничивается ими, соединение A5, как описано в настоящем описании (или соединение, описанное в патенте США № 8552002). В некоторых вариантах осуществления соединение (например, соединение A5 или соединение, родственное A5) модулирует, например ингибирует, FGFR. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или идентифицирована как имеющая повышенные уровни или активность FGFR по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной.

Пример подходящих терапевтических средств для применения в комбинации с молекулами антител против TIM-3 отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1) для лечения рака ободочной и прямой кишки включает, но не ограничивается ими, одно или оба из соединения A29, как описано в настоящем описании (или соединение согласно публикации PCT № WO 2011/025927) и цетуксимаба (например, эрбитукс, выпускаемый в продажу BMS). В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство (например, соединение A29 или соединение, родственное A29) модулирует, например ингибирует, BRAF. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство (например, цетуксимаб) модулирует, например ингибирует EGFR. В некоторых вариантах осуществления злокачественная опухоль имеет или идентифицирована как имеющая повышенные уровни или активность BRAF или EGFR по сравнению с контрольной клеткой или эталонной величиной.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения злокачественной опухоли соединением A8, цетуксимабом и молекулой антитела против TIM-3 (необязательно в комбинации с молекулой антитела против PD-1 или молекулой антитела против LAG-3). В некоторых вариантах осуществления пациента сначала лечат соединением A8 и цетуксимабом. Это лечение продолжается в течение некоторого

количества времени, например в течение заданного количества времени, например в течение приблизительно 1, 2, 4, 6, 8, 10 или 12 месяцев. Затем вводят молекулу антитела против TIM-3 (необязательно в комбинации с молекулой антитела против PD-1 или молекулой антитела против LAG-3). Антитело против TIM-3 необязательно можно вводить в комбинации с цетуксимабом.

В некоторых вариантах осуществления пациента сначала лечат всеми тремя из соединения A8, цетуксимаба и молекулы антитела против TIM-3 (необязательно в комбинации с молекулой антитела против PD-1 или молекулой антитела против LAG-3). Это лечение продолжают в течение количества времени, например заданного количества времени, например приблизительно 6, 8, 10 или 12 месяцев. Далее, соединение A8 и/или цетуксимаб можно отменять, так чтобы поддерживающая фаза вовлекала лечение молекулой антитела против TIM-3 (например, в качестве монотерапии или в комбинации с молекулой антитела против PD-1 или молекулой антитела против LAG-3), но не соединением A8 или цетуксимабом.

В других вариантах осуществления три соединения (соединение A8, цетуксимаб и молекула антитела против TIM-3, необязательно в комбинации с молекулой антитела против PD-1 или молекулой антитела против LAG-3) вводят последовательно в начале лечения. Например, сначала можно вводить соединение A8 и цетуксимаб, как описано выше. Затем к режиму добавляют молекулу антитела против TIM-3 (необязательно в комбинации с молекулой антитела против PD-1 или молекулой антитела против LAG-3). Далее соединение A8 и/или цетуксимаб можно отменять, как описано выше.

Иллюстративные дозы режимов с тремя (или более) средствами являются следующими. Молекулу антитела против TIM-3 можно вводить, например, в дозе приблизительно от 1 до 40 мг/кг, например от 1 до 30 мг/кг, например приблизительно от 5 до 25 мг/кг, приблизительно от 10 до 20 мг/кг, приблизительно от 1 до 5 мг/кг или приблизительно 3 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления соединение A8 вводят в дозе приблизительно 200-300, 300-400 или 200-400 мг. В некоторых вариантах осуществления цетуксимаб вводят в первоначальной дозе 400 мг/м² в качестве внутривенной инфузии в течение 120 мин, а затем посредством инфузии 250 мг/м² каждую неделю в течение 60 мин. В вариантах осуществления одно или несколько из соединений A8, цетуксимаба и молекулы антитела против TIM-3 вводят в дозе, которая является более низкой, чем доза, в которой это средство обычно вводят в качестве монотерапии, например приблизительно на 0-10%, 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80% или 80-90% ниже, чем доза, в которой средство обычно вводят в качестве монотерапии. В вариантах осуществления одно или несколько из соединения A8, цетуксимаба и молекулы антитела против TIM-3 вводят в дозе, которая является более низкой, чем доза этого средства, указанная в данном абзаце, например приблизительно на 0-10%, 10-20%, 20-30%, 30-40%, 40-50%, 50-60%, 60-70%, 70-80% или 80-90% ниже, чем доза этого средства, указанная в данном абзаце. В определенных вариантах осуществления концентрация соединения A8, которая требуется для достижения ингибирования, например ингибирования роста, является более низкой, когда соединение A8 вводят в комбинации с одним или обоими из цетуксимаба и молекулы антитела против TIM-3, чем когда соединение A8 вводят отдельно. В определенных вариантах осуществления концентрация цетуксимаба, которая требуется для достижения ингибирования, например ингибирования роста, является более низкой, когда цетуксимаб вводят в комбинации с одним или обоими из соединения A8 и молекулы антитела против TIM-3, чем когда цетуксимаб вводят индивидуально. В определенных вариантах осуществления концентрация молекулы антитела против TIM-3, которая требуется для достижения ингибирования, например ингибирования роста, является более низкой, когда молекулу антитела против TIM-3 вводят в комбинации с одним или обоими из цетуксимаба и соединения A8, чем когда молекулу антитела против TIM-3 вводят индивидуально.

Кроме того, в рамках настоящего изобретения описан способ лечения злокачественной опухоли молекулами антител против TIM-3 отдельно или в комбинации с другим иммуномодулятором (например, молекулой антитела против LAG-3, против PD-L1 или против PD-1) и направленным средством против злокачественной опухоли, например средством, которое нацелено на один или несколько белков. В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 (и необязательно другой иммуномодулятор(ы)) вводят сначала, а затем вводят направленное средство против злокачественной опухоли. Продолжительность периода между введением молекулы антитела против TIM-3 и направленного средства против злокачественной опухоли может составлять, например, 10, 20 или 30 мин, 1, 2, 4, 6 или 12 ч или 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 суток или любой период времени в этом диапазоне. В определенных вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 вводят многократно в течение периода времени (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 суток или 1, 2, 4, 8, 12, 16 или 20 недель или любой период времени в этом диапазоне) до введения направленного средства против злокачественной опухоли. В других вариантах осуществления молекулу антитела против TIM-3 и направленное средство против злокачественной опухоли вводят по существу одновременно.

Способы лечения инфекционных заболеваний.

Другие способы по изобретению используют для лечения пациентов, которые подверглись воздействию конкретных токсинов или патогенов. Исходя из по меньшей мере раздела "Примеры" настоящего описания, антитела против TIM-3 могут стимулировать опосредуемое NK-клетками уничтожение клеток-мишеней и могут усиливать секрецию IFN-гамма и пролиферацию CD4+ Т-клеток. Таким образом, в определенных вариантах осуществления молекулы антител против TIM-3, описанные в настоящем описа-

нии, являются пригодными для применения в стимуляции иммунного ответа против инфекционного агента. Таким образом, другой аспект изобретения относится к способу лечения инфекционного заболевания у индивидуума, включающему введение индивидууму молекулы антитела против ТИМ-3, чтобы происходило лечение индивидуума от инфекционного заболевания. При лечении инфекции (например, острой и/или хронической) введение молекул антител против ТИМ-3 можно комбинировать с общепринятыми способами лечения в дополнение к или вместо стимуляции природной иммунной защиты хозяина от инфекции. Природная иммунная защита хозяина от инфекции включает, но не ограничивается ими, воспаление, лихорадку, опосредуемую антителами защиту хозяина, опосредуемую Т-лимфоцитами защиту хозяина, включая секрецию лимфокинов и цитотоксические Т-клетки (особенно в ходе вирусной инфекции), опосредуемый комплементом лизис и опсонизацию (облегчаемые фагоцитозом) и фагоцитоз. Способность молекул антител против ТИМ-3 реактивировать дисфункциональные Т-клетки может быть пригодной для лечения хронических инфекций, в частности инфекций, при которых клеточно-опосредуемый иммунитет является важным для полного выздоровления.

Определенные способы, описанные в настоящем описании, используют для лечения пациентов, подвергнутых воздействию конкретных токсинов или патогенов. Некоторые аспекты относятся к способу лечения инфекционного заболевания у индивидуума, включающему введение индивидууму молекулы антитела против ТИМ-3, чтобы происходило лечение индивидуума от инфекционного заболевания.

Аналогично применению против опухолей, как рассмотрено в предшествующем разделе, в некоторых вариантах осуществления молекулы антител против ТИМ-3 можно использовать отдельно или в качестве адъюванта, в комбинации с вакцинами, для стимуляции иммунного ответа, например, на патогены или токсины. Примеры патогенов, для которых этот терапевтический подход может быть особенно пригодным, включают патогены, для которых в настоящее время не существует эффективной вакцины, или патогены, для которых общепринятые вакцины являются менее чем полностью эффективными. Они включают, но не ограничиваются ими ВИЧ, гепатит (А, В и С), вирус гриппа, вирус герпеса, лямблии, возбудитель малярии, лейшмании, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas Aeruginosa*. Терапия молекулой антитела против ТИМ-3 также является полезной против развернутых инфекций средствами, такими как ВИЧ, которые презентуют измененные антигены в ходе инфекций.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют для лечения индивидуума, который имеет инфекцию или имеет риск наличия инфекции. Инфекция относится, например, к заболеванию или состоянию, обусловленному присутствием у хозяина чужеродного организма или агента, который воспроизводится в хозяине. Инфекции, как правило, вовлекают проникновение через нормальную слизистую оболочку или другой тканевой барьер инфекционного организма или агента. Индивидуум, который имеет инфекцию, представляет собой индивидуума, имеющего поддающиеся объективному измерению инфекционные организмы или агенты, присутствующие в организме человека. Индивидуум, имеющий риск наличия инфекции, представляет собой индивидуума, который предрасположен к развитию инфекции. Такой индивидуум может включать, например, индивидуума с известным или предполагаемым воздействием инфекционного организма или агента. Индивидуум, имеющий риск наличия инфекции, также может включать индивидуума с состоянием, ассоциированным со сниженной способностью индуцировать иммунный ответ на инфекционный организм или агент, например индивидуума с врожденным или приобретенным иммунодефицитом, индивидуума, подвергающегося лучевой терапии или химиотерапии, индивидуума с повреждением головного мозга, индивидуума с травматическим повреждением, индивидуума, подвергающегося хирургической операции или другой инвазивной медицинской или стоматологической процедуре.

Инфекции широко классифицируют как бактериальные, вирусные, грибковые или паразитарные, исходя из категории вовлеченного инфекционного организма или агента. Другие менее известные типы инфекций включают, например, инфекции, вовлекающие риккетсии, микоплазмы и агенты, вызывающие почесуху, губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота (BSE) и прионные заболевания (например, куру и болезнь Крейтцфельда-Якоба). Примеры бактерий, вирусов, грибов и паразитов, которые вызывают инфекцию, хорошо известны в данной области. Инфекция может быть острой, подострой, хронической или латентной, и она может быть локализованной или системной. Более того, инфекция может быть в основном внутриклеточной или внеклеточной в ходе по меньшей мере одной фазы жизненного цикла инфекционного организма или агента у хозяина.

Вирусы

Примеры вирусов, для которых было обнаружено, что они вызывают инфекции у человека, включают, но не ограничиваются ими: *Retroviridae* (например, вирусы иммунодефицита человека, такие как ВИЧ-1 (также обозначаемый как HTLV-III), ВИЧ-2, LAV или HTLV-III/LAV или ВИЧ-III, и другие изоляты, такие как HIV-LP; *Picornaviridae* (например, вирусы полиомиелита, вирус гепатита А; энтеровирусы, вирусы Коксаки человека, риновирусы, эховирусы); *Calciviridae* (например, штаммы, которые вызывают гастроэнтерит); *Togaviridae* (например, вирусы энцефалита лошадей, вирусы краснухи); *Flaviviridae* (например, вирусы денге, вирусы энцефалита, вирусы желтой лихорадки); *Coronaviridae* (например, коронавирусы); *Rhabdoviridae* (например, вирусы везикулярного стоматита, вирусы бешенства); *Filoviridae* (например, вирусы Эбола); *Paramyxoviridae* (например, вирусы парагриппа, вирус свинки, вирус кори,

респираторно-синцитиальный вирус); Orthomyxoviridae (например, вирусы гриппа); Bunyaviridae (например, хантавирусы, буньявирусы, флебовирусы и найровирусы); Arenaviridae (вирусы геморрагической лихорадки); Reoviridae (например, реовирусы, орбивирусы и ротавирусы); Birnaviridae; Hepadnaviridae (вирус гепатита В); Parvoviridae (парвовирусы); Papovaviridae (вирусы папилломы, вирусы полиомы); Adenoviridae (большинство аденовирусов); Herpesviridae (вирус простого герпеса (HSV) 1 и 2, вирус ветряной оспы, цитомегаловирус (CMV), вирус герпеса); Poxviridae (вирусы оспы, вирусы коревой оспы, поксвирусы) и Iridoviridae (например, вирус африканской лихорадки свиней); и неклассифицируемые вирусы (например, этиологические агенты губчатой энцефалопатии, агент дельта-гепатита (предположительно являющийся дефектным сателлитом вируса гепатита В), агенты ни А-, ни В-гепатита (класс 1 = передаваемый через кишечник; класс 2 = парентерально передаваемый (т.е. гепатит С); норовирусы и родственные вирусы, и астровирусы). Некоторые примеры патогенных вирусов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами, описанными в настоящем описании, включают ВИЧ, гепатит (А, В или С), вирус герпеса (например, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II и CMV, вирус Эпштейна-Барр), аденовирус, вирус гриппа, флавивирусы, эховирус, риновирус, вирус Коксаки, респираторно-синцитиальный вирус, вирус свинки, ротавирус, вирус кори, вирус краснухи, парвовирус, вирус коревой оспы, вирус HTLV, вирус денге, папилломавирус, вирус моллюска, полиовирус, вирус бешенства, вирус JC и вирус арбовирусного энцефалита.

Для инфекций, являющихся результатом вирусов, молекулы антител против ТИМ-3 можно комбинировать посредством применения одновременно, перед или после применения стандартных способов терапии для лечения вирусных инфекций. Такие стандартные способы терапии варьируются в зависимости от типа вируса, хотя практически во всех случаях может быть эффективным введение выворотки человека, содержащей антитела (например, IgA, IgG), специфичные к вирусу.

Некоторые примеры патогенных вирусов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами, включают ВИЧ, гепатит (А, В или С), вирус герпеса (например, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II и CMV, вирус Эпштейна-Барр), аденовирус, вирус гриппа, флавивирусы, эховирус, риновирус, вирус Коксаки, коронавирусы, респираторно-синцитиальный вирус, вирус свинки, ротавирус, вирус кори, вирус краснухи, парвовирус, вирус коревой оспы, вирус HTLV, вирус денге, папилломавирус, вирус моллюска, полиовирус, вирус бешенства, вирус JC, вирус арбовирусного энцефалита и эболавирусы (например, BDBV, EBOV, RESTV, SUDV и TAFV).

В одном варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию вирусом гриппа. Инфекция вирусом гриппа может вызывать лихорадку, кашель, миалгию, головную боль и недомогание, которые часто возникают при сезонных эпидемиях. Вирус гриппа также ассоциирован с рядом постинфекционных нарушений, таких как энцефалит, миоперикардит, синдром Гудпасчера и синдром Рейе. Инфекция вирусом гриппа также подавляет нормальные антибактериальные защиты легких, так что пациент, выздоравливающий от гриппа, имеет увеличенный риск развития бактериальной пневмонии. Поверхностные белки вируса демонстрируют выраженное антигенное варьирование, являющееся результатом мутации и рекомбинации. Таким образом, цитолитические Т-лимфоциты являются основным средством хозяина для устранения вируса после инфицирования. Грипп классифицируют на три основных типа: А, В и С. Вирус гриппа типа А является уникальным, поскольку он инфицирует как человека, так и многих других животных (например, свиней, лошадей, птиц и тюленей) и является основной причиной пандемического гриппа. Также, когда клетка инфицируется двумя различными штаммами вируса гриппа А, сегментированные РНК-геномы двух типов родительских вирусов смешиваются в процессе репликации с образованием гибридного репликанта, что приводит к новым эпидемическим штаммам. Вирус гриппа В не реплицируется у животных и, таким образом, имеет меньшее генетическое варьирование и вирус гриппа С имеет только один серотип.

Большинство общепринятых способов терапии являются паллиативными средствами против симптомов в результате инфекции, в то время как в действительности заболевание устраняется иммунным ответом хозяина. Однако определенные штаммы (например, вирус гриппа А) могут вызывать более тяжелое заболевание и смерть. Вирус гриппа А можно лечить как клинически, так и профилактически, посредством введения ингибиторов циклических аминов амантадина и римантидина, которые ингибируют репликацию вируса. Однако клиническая применимость этих лекарственных средств ограничена вследствие относительно высокой встречаемости неблагоприятных реакций, которые сужают противовирусный спектр (только вирус гриппа А) и тенденции вируса к устойчивости. Введение сывороточного IgG-антител к основным поверхностным белкам вируса гриппа: гемагглютинину и нейраминидазы, может препятствовать легочной инфекции, в то время как для предупреждения инфицирования верхних дыхательных путей и трахеи требуется мукозальный IgA. Наиболее эффективным современным способом лечения гриппа является вакцинация посредством введения вируса, инактивированного формалином или β-пропиолактоном.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию гепатита, например инфекцию гепатита В или С.

Вирус гепатита В (HBV) является наиболее инфекционным передаваемым через кровь патогеном. Он является основной причиной острого и хронического гепатита и карциномы печени, а также пожиз-

ненной хронической инфекции. После инфекции вирус реплицируется в гепатоцитах, с которых также затем отделяется поверхностный антиген HBsAg. Обнаружение избыточных уровней HBsAg в сыворотке используют в качестве стандартного способа диагностики инфекции гепатита В. Острая инфекция может разрешаться или может развиваться в хроническую персистирующую инфекцию. Современные способы лечения хронического HBV включают α -интерферон, который повышает экспрессию лейкоцитарного антигена человека класса I (HLA) на поверхности гепатоцитов, тем самым облегчая их распознавание цитотоксическими Т лимфоцитами. Кроме того, нуклеозидные аналоги ганцикловир, фамцикловир и ламивудин также продемонстрировали некоторую эффективность в отношении лечения инфекции HBV в клинических испытаниях. Дополнительные способы лечения HBV включают пегилированный α -интерферон, аденофавир, энтекавир и телбувидин. Хотя пассивный иммунитет может быть сообщен посредством парентерального введения сывороточных антител против HBsAg, вакцинация инактивированным или рекомбинантным HBsAg также сообщает устойчивость к инфекции. Молекулы антител против Т ИМ-3 можно комбинировать с общепринятыми способами лечения инфекций гепатита В для получения терапевтического преимущества.

Инфекция вирусом гепатита С (НС-V) может приводить к хронической форме гепатита, вызывающей цирроз. Хотя симптомы являются сходными с симптомами инфекции, вызываемой вирусом гепатита В, в отличие от HB-V, инфицированные хозяева могут быть бессимптомными в течение 10-20 лет. Молекулу антитела против ТИМ-3 можно вводить в качестве монотерапии или в комбинации со стандартным способом лечения инфекции гепатита С. Например, молекулу антитела против ТИМ-3 можно вводить с одним или несколькими из Совальди (софосбувир), Олизии (симепревил), вместе с рибавирином или пегилированным интерфероном. Хотя также одобрены режимы, которые включают Инцивек (телапревил) или Виктрелис (боцепревил) плюс рибавирин и пегилированный интерферон, они ассоциированы с увеличенными побочными эффектами и большей длительностью лечения, и, таким образом, они не считаются предпочтительными режимами.

Общепринятый способ лечения инфекции НС-V включает введение комбинации α -интерферона и рибавирина. Перспективной потенциальной терапией инфекции НС-V является ингибитор протеаз телапревил (VX-960). Дополнительные способы лечения включают: антитело против PD-1 (MDX-1106, Медарекс), бавитуксимаб (антитело, которое связывается с анионным фосфолипидом фосфатидилсерином, зависимым от В2-гликопротеина I образом, Peregrine Pharmaceuticals), антитело(а) против белка Е2 вирусной оболочки НРV (например, АТL 6865-Ab68+Ab65, ХТL Pharmaceuticals) и Сивациг® (поликлональный иммуноглобулин человека против НСV). Антитела против PD-L1 по изобретению можно комбинировать с одним или несколькими из этих способов лечения инфекций гепатита С для получения терапевтического преимущества. Ингибиторы протеазы, полимеразы и NS5A, которые можно использовать в комбинации с молекулами антител против ТИМ-3 для специфического лечения инфекции гепатита С включают средства, описанные в US 2013/0045202, включенной в настоящее описание посредством ссылки.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию вирусом кори. После инкубации в течение 9-11 суток у хозяев, инфицированных вирусом кори, развивается лихорадка, кашель, ринит и конъюнктивит. В течение 1-2 суток развивается эритематозная макопулезная сыпь, которая быстро распространяется по всему телу. Поскольку инфекция также подавляет клеточный иммунитет, хозяин имеет более высокий риск развития бактериальных суперинфекций, включая отит среднего уха, пневмонию и постинфекционный энцефаломиелит. Острая инфекция ассоциирована со значительной заболеваемостью и смертностью, особенно у имеющих неполноценное питание подростков.

Лечение кори включает пассивное введение объединенного IgG человека, которое может препятствовать инфекции у неиммунных индивидуумов, даже при введении вплоть до одной недели после воздействия. Однако предшествующая иммунизация живым ослабленным вирусом является наиболее эффективным способом лечения и предотвращает заболевание более чем у 95% иммунизированных индивидуумов. Поскольку существует один серотип вируса, одна иммунизация или инфекция, как правило, приводит к пожизненной защите от последующей инфекции.

У небольшой части инфицированных хозяев корь может развиваться в SSPE, который представляет собой хроническое прогрессирующее неврологическое нарушение в результате персистирующей инфекции центральной нервной системы. SSPE вызывается клональными вариантами вируса кори с дефектами, которые препятствуют сборке и почкованию вируса. Для этих пациентов может быть желательной реактивация Т-клеток молекулами антител против ТИМ-3, чтобы способствовать выведению вируса.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой ВИЧ. ВИЧ атакует CD4⁺-клетки, включая Т-лимфоциты, моноциты-макрофаги, фолликулярные дендритные клетки и клетки Лангерганса, и происходит истощение CD4⁺ хелперных/индуцирующих клеток. В результате хозяин приобретает тяжелый дефект клеточно-опосредуемого иммунитета. Инфекция ВИЧ приводит к СПИД по меньшей мере у 50% индивидуумов и передается через половой контакт, введение инфицированной крови или продуктов крови, искусственное оплодотворение инфицированной спермой, воздействие содержащих кровь игл или шприцов и от инфицированной матери к младенцу в процессе родов.

Хозяин, инфицированный ВИЧ, может быть бессимптомным, или у него может развиваться острое заболевание, которое напоминает мононуклеоз - лихорадка, головная боль, боль в горле, недомогание и сыпь. Симптомы могут прогрессировать в прогрессирующую иммунную дисфункцию, включая персистирующую лихорадку, ночную потливость, снижение массы тела, необъяснимую диарею, экзему, псориаз, себорейный дерматит, опоясывающий герпес, кандидоз полости рта и волосистую лейкоплакию полости рта. У пациентов, у которых инфекции развиваются в СПИД, являются частыми оппортунистические инфекции хозяина паразитами.

Лечение ВИЧ включает противовирусную терапию, включающую аналоги нуклеозидов, зидовудин (AZT), либо отдельно, либо в комбинации с диданозином или зальцитабином, дидезоксинозин, дидезоксицитидин, ламивудин, ставудин; ингибиторы обратной транскриптазы, такие как делавирдин, невирапин, ловиринд, и ингибиторы протеаз, такие как саквинавир, ритонавир, индинавир и нельфинавир. Молекулы антител против ТИМ-3 можно комбинировать с общепринятыми способами лечения ВИЧ-инфекций для получения терапевтического преимущества.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию цитомегаловирусом (CMV). Инфекция CMV часто ассоциирована с персистирующей, латентной и рецидивирующей инфекцией. CMV инфицирует моноциты и клетки-предшественники гранулоцитов-моноцитов и остается латентным в них. Клинические симптомы CMV включают мононуклеоз-подобные симптомы (т.е. лихорадка, увеличенные железы, недомогание) и тенденцию к развитию аллергической кожной сыпи на антибиотики. Вирус распространяется посредством прямого контакта. Вирус выделяется в мочу, слюну, сперму и в меньшей степени в другие жидкости организма. Передача также может происходить от инфицированной матери к ее плоду или новорожденному ребенку и посредством переливания крови и трансплантации органов. Инфекция CMV, как правило, приводит к снижению клеточного иммунитета, характеризующемуся сниженными бластогенными ответами на неспецифические митогены и специфические антигены CMV, снижению цитотоксической способности и повышению количества CD8-лимфоцитов или CD4+ лимфоцитов.

Лечение инфекции CMV включает противовирусные средства ганцикловир, фоскарнет и сидовир, однако эти лекарственные средства, как правило, назначают только пациентам с иммунодефицитом. Молекулы антител против ТИМ-3 можно комбинировать с общепринятыми способами лечения цитомегаловирусных инфекций для получения терапевтического преимущества.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию вирусом Эпштейна-Барр (EBV). EBV может вызывать персистирующие и латентные инфекции и в основном атакует В-клетки. Инфекция посредством EBV приводит к клиническому состоянию инфекционного мононуклеоза, которое включает лихорадку, боль в горле часто с экссудатом, генерализованную лимфаденопатию и спленомегалию. Также присутствует гепатит, в результате которого может развиваться желтуха.

Хотя типичными способами лечения инфекций EBV является паллиативное лечение симптомов, EBV ассоциирован с развитием определенных злокачественных опухолей, таких как лимфома Беркитта и рак носоглотки. Таким образом, выведение вирусной инфекции до возникновения этих осложнений имело бы значительную пользу. Молекулы антител против ТИМ-3 можно комбинировать с общепринятыми способами лечения инфекций вирусом Эпштейна-Барр для получения терапевтического преимущества.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию вирусом простого герпеса (HSV). HSV передается посредством прямого контакта с инфицированным хозяином. Прямая инфекция может быть бессимптомной, однако, как правило, приводит к буллезным пузырькам, содержащим инфекционные частицы. Заболевание проявляется в качестве циклов активных периодов заболевания, при которых появляются очаги повреждения и исчезают по мере того, как вирус латентно инфицирует нервный ганглий для последующих обострений. Очаги повреждения могут быть на лице, половых органах, глазах и/или руках. В некоторых случаях инфекция также может вызывать энцефалит.

Способы лечения инфекций вирусом герпеса в основном направлены на разрешение симптоматических обострений и включают системные противовирусные лекарственные средства, такие как: ацикловир (например, Zovirax®), валацикловир, фамцикловир, пенцикловир, и местные лекарственные средства, такие как доказанол (Abreva®), тромантидин и зилактин. Выведение латентных инфекций вирусом герпеса имело бы значительную клиническую пользу. Молекулы антител против ТИМ-3 можно комбинировать с общепринятыми способами лечения инфекций вирусом герпеса для получения терапевтического преимущества.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию Т-лимфотропным вирусом человека (HTLV-1, HTLV-2). HTLV передается посредством полового контакта, грудного вскармливания или воздействия зараженной крови. Вирус активирует подгруппу Т_H-клеток, называемых Th1-клетками, что приводит к сверхпролиферации и сверхпродукции Th1-цитокинов (например, IFN- γ и TNF- α). Это в свою очередь приводит к подавлению Th2-лимфоцитов и снижению продукции Th2-цитокинов (например, IL-4, IL-5, IL-10 и IL-13), вызывающим снижение способности инфицированного хозяина индуцировать адекватный иммунный ответ на вторгающиеся организмы, для выведения которых требуется Th2-зависимый ответ (например, паразитарные инфекции, продукция мукозальных и гумо-

ральных антител).

Инфекции HTLV приводят к оппортунистическим инфекциям, вызывающим бронхоэктазы, дерматит и суперинфекции *Staphylococcus* spp. и *Strongyloides* spp., что приводит к гибели от полимикробного сепсиса. Инфекция HTLV также может приводить непосредственно к взрослому Т-клеточному лейкозу/лимфоме и прогрессирующей демиелинизирующей болезни верхнего двигательного нейрона, известной как HAM/TSP. Выведение латентных инфекций HTLV может иметь значительную клиническую пользу. Молекулы антител против ТИМ-3 можно комбинировать с общепринятыми способами лечения инфекций HTLV для получения терапевтического преимущества.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой инфекцию вирусом папилломы человека (HPV). HPV в основном поражает кератиноциты и возникает в двух формах: кожной и генитальной. Полагают, что передача происходит посредством прямого контакта и/или половой активности. Как кожная, так и генитальная инфекция HPV могут приводить к бородавкам и латентным инфекциям и, иногда, рецидивирующим инфекциям, которые контролируются иммунитетом хозяина, который контролирует симптомы и блокирует появление бородавок, но оставляет хозяина способным передавать инфекцию другим людям.

Инфекция HPV также может приводить к определенным злокачественным опухолям, таким как рак шейки матки, анального канала, женских наружных половых органов, полового члена и ротоглотки. В настоящее время отсутствуют известные способы лечения инфекции HPV, однако текущим способом лечения является местное применение имиквимода, который стимулирует атаку иммунной системой пораженной области. Выведение латентных инфекций HPV может иметь значительную клиническую пользу. Антитела против ТИМ-3 по изобретению можно комбинировать с общепринятыми способами лечения инфекций HPV для получения терапевтического преимущества.

В другом варианте осуществления инфекция представляет собой вирус Эбола (EBOV). EBOV является одним из пяти известных вирусов рода Эболавирусов. EBOV вызывает тяжелую и часто летальную геморрагическую лихорадку у человека и млекопитающих, известную как заболевание, обусловленное вирусом Эбола (EVD). Передача происходит через контакт с кровью, секретами, органами или другими жидкостями организма инфицированных пациентов. В настоящее время отсутствует одобренный способ лечения или вакцина.

Бактериальные инфекции.

Бактерии включают грамотрицательные и грамположительные бактерии. Примеры грамположительных бактерий включают, но не ограничиваются ими виды *Pasteurella*, виды *Staphylococcus* и виды *Streptococcus*. Примеры грамотрицательных бактерий включают, но не ограничиваются ими, *Escherichia coli*, виды *Pseudomonas* и виды *Salmonella*. Конкретные примеры инфекционных бактерий включают, но не ограничиваются ими: *Helicobacter pylori*, *Borrelia burgdorferi*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacteria* spp. (например, *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. goodii*), *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes* (стрептококк группы А), *Streptococcus agalactiae* (стрептококк группы В), *Streptococcus* (группа viridans), *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus* (анаэробные виды.), *Streptococcus pneumoniae*, патогенные *Campylobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Haemophilus influenzae*, *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium* spp., *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Streptobacillus moniliformis*, *Treponema pallidum*, *Treponema pertense*, *Leptospira*, *Mycobacterium leprae*, *Rickettsia* и *Actinomyces israelii*. Некоторые примеры патогенных бактерий, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами, описанными в настоящем описании, включают хламидии, риккетсиозные бактерии, микобактерии, стафилококки, стрептококки, пневмококки, менингококки и гонококки, клебсиеллы, протеи, сerratии, псевдомонады, легионеллы, возбудители дифтерии, сальмонеллы, бациллы, возбудители холеры, возбудители столбняка, возбудители ботулизма, возбудители сибирской язвы, возбудители чумы, возбудители лептоспироза и возбудители болезни Лайма.

Некоторые примеры патогенных бактерий, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами по изобретению, включают возбудителей сифилиса, хламидии, риккетсиозные бактерии, микобактерии, стафилококки, стрептококки, пневмококки, менингококки и гонококки, клебсиеллы, протеи, сerratии, псевдомонады, легионеллы, возбудители дифтерии, сальмонеллы, бациллы, возбудители холеры, возбудители столбняка, возбудители ботулизма, возбудители сибирской язвы, возбудители чумы, возбудители лептоспироза и возбудители болезни Лайма. Молекулы антител против ТИМ-3 можно использовать в комбинации с существующими способами лечения вышеупомянутых инфекций. Например, способы лечения сифилиса включают пенициллин (например, пенициллин G), тетрациклин, доксицилин, цефтриаксон и азитромицин.

Болезнь Лайма, вызываемая *Borrelia burgdorferi*, передается человеку через укусы клещей. Заболевание первоначально проявляется в виде локализованной сыпи, за которой следуют гриппоподобные симптомы. Включая недомогание, лихорадку, головную боль, скованность мышц шеи и боль в суставах. Более поздние проявления могут включать мигрирующий и полиартикулярный артрит, вовлечение нервной системы и сердца с параличом черепных нервов и радикулопатией, миокардитом и аритмиями. Не-

которые случаи болезни Лайма становятся персистирующими, вызывая необратимое повреждение, аналогичное третичному сифилису. Современные способы терапии болезни Лайма включают в основном введение антибиотиков. Устойчивые к антибиотикам штаммы можно лечить гидроксихлороквином или метотрексатом. Рефрактерных к антибиотикам пациентов с нейропатической болью можно лечить габапентином. Миноциклин может быть полезным при поздней/хронической болезни Лайма с неврологическими или другими воспалительными проявлениями.

Другие формы боррелиоза, такие как формы, возникающие в результате инфекции *B. recurrentis*, *B. hermsii*, *B. turicatae*, *B. parikeri*, *B. hispanica*, *B. duttonii* и *B. persica*, а также лептоспироз (например, *L. interrogans*), как правило, разрешаются самопроизвольно, если титры в крови не достигают концентрации, вызывающей внутрипеченочную обструкцию.

Грибы и паразиты.

Примеры грибов включают: *Aspergillus* spp., *Blastomyces dermatitidis*, *Candida albicans*, другие *Candida* spp., *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Chlamydia trachomatis*, *Nocardia* spp., *Pneumocystis carinii*. Некоторые примеры патогенных грибов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами, описанными в настоящем описании, включают *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis* и т.д.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, и т.д.), род *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizophus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*.

Паразиты включают, но не ограничиваются ими, передаваемые через кровь и/или тканевые паразиты, такие как *Babesia microti*, *Babesia divergens*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Leishmania tropica*, *Leishmania* spp., *Leishmania braziliensis*, *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax* и *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma gambiense* и *Trypanosoma rhodesiense* (африканская сонная болезнь), *Trypanosoma cruzi* (болезнь Чагаса) и *Toxoplasma gondii*, плоские черви, круглые черви. Некоторые примеры патогенных паразитов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами, описанными в настоящем описании, включают *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* и *Nippostrongylus brasiliensis*.

Некоторые примеры патогенных грибов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами по изобретению, включают *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis* и т.д.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger* и т.д.), Genus *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizophus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*.

Некоторые примеры патогенных паразитов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению способами, описанными в настоящем описании, включают *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* и *Nippostrongylus brasiliensis*.

В некоторых вариантах осуществления инфекционное заболевание выбрано из гепатита (например, инфекция вирусом гепатита С) или сепсиса.

Во всех из описанных выше способов терапии молекулой антитела против TIM-3 можно комбинировать с другими формами иммунотерапии, такими как лечение цитокинами (например, интерфероны, GM-CSF, G-CSF, IL-2, IL-21) или терапией биспецифическим антителом, которая обеспечивает усиленное представление опухолевых антигенов (см., например, Holliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak (1994) Structure 2:1121-1123).

Способы введения различных молекул антител известны в данной области и описаны ниже. Подходящие дозировки молекул антител зависят от возраста и массы тела индивидуума и конкретного используемого лекарственного средства. Молекулы антител можно использовать в качестве конкурентных средств для связывания лиганда в целях ингибирования или снижения нежелательного взаимодействия.

Молекулы антител можно использовать сами по себе или в форме конъюгата со вторым средством, например цитотоксическим лекарственным средством, радиоизотопом или белком, например белковым токсином или вирусным белком. Этот способ включает: введение молекулы антитела, отдельно или конъюгированной с цитотоксическим лекарственным средством, индивидууму, которому требуется такое лечение. Молекулы антител можно использовать для доставки различных лекарственных средств, например, цитотоксической части, например, терапевтического лекарственного средства, радиоизотопов, молекул растительного, грибного или бактериального происхождения или биологических белков (например, белковые токсины) или частиц (например, рекомбинантные вирусные частицы, например; через белок вирусной оболочки) или их смесей.

Дополнительные комбинированные способы терапии.

Молекулы антител против TIM-3 можно использовать в комбинации с другими способами терапии. Например, комбинированная терапия может включать молекулу антитела против TIM-3, совместно составленную и/или совместно введенную с одним или несколькими дополнительными лекарственными средствами, например одним или несколькими средствами против злокачественной опухоли, цитотокси-

ческими или цитостатическими средствами, гормональным лечением, вакцинами и/или другими способами иммунотерапии. В других вариантах осуществления молекулы антител вводят в комбинации с другими способами терапевтического лечения, включая хирургическую операцию, лучевую терапию, криохирургию и/или термотерапию. В таких комбинированных способах терапии могут преимущественно использоваться более низкие дозировки введенных лекарственных средств, таким образом, избегая возможной токсичности или осложнений, ассоциированных с различными способами монотерапии.

Введение "в комбинации", как используют в рамках изобретения, означает, что два (или более) различных лекарственных средства доставляют индивидууму в течение периода времени, когда индивидуум страдает нарушением, например два или более лекарственных средства доставляют после диагностирования у индивидуума нарушения и до излечения или устранения нарушения. В некоторых вариантах осуществления осуществление одного способа лечения все еще происходит, когда начинается осуществление второго способа, так что существует перекрытие. Это иногда называют в настоящем описании "одновременной" или "совместной доставкой". В других вариантах осуществления доставка одного лекарственного средства оканчивается до начала доставки другого лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления любого из этих случаев лечение является более эффективным вследствие комбинированного введения. Например, второе лекарственное средство является более эффективным, например, эквивалентный эффект наблюдают с использованием меньшего количества второго лекарственного средства, или второе лекарственное средство уменьшает симптомы в большей степени, чем наблюдалось бы, если бы второе лекарственное средство вводили в отсутствие первого лекарственного средства, или аналогичную ситуацию наблюдают для первого лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления доставка является такой, что снижение симптома или другого параметра, связанного с нарушением, является более высоким, чем наблюдалось бы, когда одно лекарственное средство доставляют в отсутствие другого. Эффект двух лекарственных средств может быть частично аддитивным, полностью аддитивным или более чем аддитивным. Доставка может быть такой, что эффект первого доставляемого лекарственного средства все еще поддается обнаружению, когда доставляют второе лекарственное средство.

Молекулы антител против TIM-3 можно вводить в комбинации с одним или несколькими существующими способам лечения злокачественных опухолей, включая, но не ограничиваясь ими: хирургическую операцию; лучевую терапию (например, терапия внешним пучком, которая вовлекает трехмерную конформную лучевую терапию, где область облучения рассчитывают).

В некоторых аспектах антитело против TIM-3 вводят совместно со вторым средством, которое действует на TIM-3 или другой элемент каскада TIM-3.

В некоторых вариантах осуществления, например при лечении инфекционного заболевания, антитело против TIM-3 можно совместно вводить, например, с антибиотиком, противовирусным средством или противогрибковым средством.

В некоторых вариантах осуществления, например при лечении болезни Крона, антитело против TIM-3 можно совместно вводить, например, с противовоспалительным лекарственным средством, таким как 5-аминосалициловая кислота (5-ASA), преднизон или гидрокортизон; аналоги пуринов, такие как азатиоприн; антиметаболиты, такие как метотрексат; ингибиторы TNF-альфа, например моноклональное антитело к фактору некроза опухоли альфа (TNF- α), например инфликсимаб, адалимумаб или цертолизумаб; или ингибиторы интегринов, например моноклональное антитело к альфа-4-интегрину, например натализумаб.

В некоторых вариантах осуществления, например при лечении рассеянного склероза, антитело против TIM-3 можно совместно вводить, например, с интерфероном, таким как интерферон бета-1a, интерферон бета-1b, аналог интерферона, полимер случайных аминокислот, такой как глатирамера ацетат; ингибитор топоизомеразы типа II, такой как митоксантрон; ингибитор интегрина, например моноклональное антитело к альфа-4-интегрину, например натализумаб; модулятор рецептора сфингозин-1-фосфата, например финголимод; ингибитор синтеза пиримидинов, например ингибитор дигидрооротат-дегидрогеназы, такой как терифлуномид; и другие иммуномодулирующие средства, такие как диметилфумарат.

В некоторых вариантах осуществления, например при лечении сепсиса, антитело против TIM-3 можно совместно вводить, например, с антибиотиками; сосудосуживающими факторами, такими как норадреналин или дофамин; стероидами; рекомбинантным активируемым белком C (дротрекогин альфа); внутривенными жидкостями и внешним дыханием.

В некоторых вариантах осуществления, например при лечении SIRS (синдром системного воспалительного ответа), антитело против TIM-3 можно совместно вводить, например, с антибиотиками; стероидами; антиоксидантами или внутривенными жидкостями.

В некоторых вариантах осуществления, например при лечении гломерулонефрита, антитело против TIM-3 можно совместно вводить, например, со стероидами; алкилирующим средством, таким как циклофосфамид; или аналогом пурина, таким как азатиоприн.

В рамках настоящего изобретения предусматриваются комбинации молекул антител против TIM-3 с одним или несколькими вторыми терапевтическими средствами. Многие из комбинаций в этом разделе

являются пригодными для лечения злокачественной опухоли, однако также описаны другие показания. Данный раздел сфокусирован на комбинациях молекул антител против TIM-3, необязательно в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами (например, молекула антитела против PD-1, молекула антитела против LAG-3 или молекула антитела против PD-L1), с одним или несколькими средствами, описанными в табл. 6. В комбинациях, описанных ниже, в одном варианте осуществления молекула антитела против TIM-3 содержит (i) переменную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3 или SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 30 или SEQ ID NO: 31 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и (ii) переменную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8 или SEQ ID NO: 14.

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором ПКС сотрастурином (соединение A1) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2005/039549, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор ПКС описан в табл. 6 или в публикации, приведенной в табл. 6, например, в ряду A1 табл. 6. В одном варианте осуществления ингибитор ПКС представляет собой сотрастурином (соединение A1) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2005/039549. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с сотрастурином (соединение A1) или соединением, как описано в публикации PCT № WO 2005/039549, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, меланома, неходжкинская лимфома, воспалительное заболевание кишечника, отторжение трансплантата, офтальмологическое нарушение или псориаз.

В определенных вариантах осуществления сотрастурином (соединение A1) вводят в дозе приблизительно от 20 до 600 мг, например от приблизительно 200 до приблизительно 600 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 450 мг, приблизительно от 100 до 400 мг, приблизительно от 150 до 350 мг или приблизительно от 200 до 300 мг, например, приблизительно 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 300 мг, 400 мг, 500 или 600 мг. Схема дозирования может варьироваться, например, от введения раз в двое суток до введения каждые сутки, два раза или три раза в сутки.

В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором BCR-ABL TASIГNA (соединение A2 или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2004/005281), для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор BCR-ABL представляет собой TASIГNA или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2004/005281. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с TASIГNA (соединение A2) или соединением, как описано в публикации PCT № WO 2004/005281, для лечения нарушения, такого как лимфоцитарный лейкоз, болезнь Паркинсона, неврологическая злокачественная опухоль, меланома, рак пищеварительного тракта/желудочно-кишечный рак, рак ободочной и прямой кишки, миелоидный лейкоз, рак головы и шеи или легочная гипертензия.

В одном варианте осуществления ингибитор BCR-ABL или TASIГNA вводят в дозе приблизительно 300 мг (например, два раза в сутки, например, для вновь диагностированного Ph⁺ CML-CP) или приблизительно 400 мг, например, два раза в сутки, например, для резистентного или нетолерантного Ph⁺ CML-CP и CML-AP). Ингибитор BCR-ABL или соединение A2 вводят в дозе приблизительно 300-400 мг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором HSP90, таким как 5-(2,4-дигидрокси-5-изопропилфенил)-N-этил-4-(4-(морфолинometил)фенил)изоксазол-3-карбоксамид (соединение A3) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2010/060937 или WO 2004/072051, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор HSP90 представляет собой 5-(2,4-дигидрокси-5-изопропилфенил)-N-этил-4-(4-(морфолинometил)фенил)изоксазол-3-карбоксамид (соединение A3) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2010/060937 или WO 2004/072051. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с 5-(2,4-дигидрокси-5-изопропилфенил)-N-этил-4-(4-(морфолинometил)фенил)изоксазол-3-карбоксамидом (соединение A3) или соединением, как описано в публикации PCT № WO 2010/060937 или WO 2004/072051, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, множественная миелома, немелкоклеточный рак легкого, лимфома, рак желудка, рак молочной железы, рак пищеварительного тракта/желудочно-кишечный рак, рак поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки, солидная опухоль или гемопоэтическое нарушение.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими

другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором PI3K и/или mTOR дактолисибом (соединение А4) или 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-оном (соединение А41) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2006/122806, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K и/или mTOR представляет собой дактолисиб (соединение А4), 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-он (соединение А41) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2006/122806. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с дактолисибом (соединение А4), 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметилфенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-оном (соединение А41) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2006/122806, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, рак предстательной железы, лейкоз (например, лимфоцитарный лейкоз), рак молочной железы, злокачественная опухоль головного мозга, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы, рак почки, солидная опухоль или рак печени.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором FGFR 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевинной (соединение А5) или соединением, описанным в патенте США 8552002, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR представляет собой 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевину (соединение А5) или соединением, описанное в патенте США 8552002. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с соединением А5 или соединением, как описано в US 8552002, для лечения нарушения, такого как рак пищеварительного тракта/желудочно-кишечный рак, гематологическая злокачественная опухоль или солидная опухоль.

В одном варианте осуществления ингибитор FGFR или 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиримидин-4-ил)-1-метилмочевину (соединение А5) вводят в дозе приблизительно 100-125 мг (например, в сутки), например, приблизительно 100 мг или приблизительно 125 мг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором PI3K бупарлисибом (соединение А6) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2007/084786, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой бупарлисиб (соединение А6) или соединением, описанное в публикации РСТ № WO 2007/084786. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с бупарлисибом (соединение А6) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2007/084786, для лечения нарушения, такого как рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, эндокринная злокачественная опухоль, лейкоз, рак яичника, меланома, рак мочевого пузыря, рак молочной железы, рак женской репродуктивной системы, рак пищеварительного тракта/желудочно-кишечный рак, рак ободочной и прямой кишки, мультиформная глиобластома, солидная опухоль, неходжкинская лимфома, гемопоэтическое нарушение или рак головы и шеи.

В одном варианте осуществления ингибитор PI3K или бупарлисиб (соединение А6) вводят в дозе приблизительно 100 мг (например, в сутки).

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором FGFR 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамидом (соединение А7) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2009/141386, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR представляет собой 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид (соединение А7) или соединением, описанное в публикации РСТ № WO 2009/141386. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR представляет собой 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид (соединение А7). В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамидом (соединение А7) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2009/141386, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, характеризующегося ангиогенезом.

В одном варианте осуществления ингибитор FGFR или 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамид (соединение А7) вводят в дозе,

например, от приблизительно 3 мг до приблизительно 5 г, более предпочтительно от приблизительно 10 мг до приблизительно 1,5 г на индивидуума в сутки, необязательно разделенной на 1-3 отдельных дозы, которые могут иметь, например, одинаковый размер.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором PI3K (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамидом (соединение A8) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2010/029082, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамид (соединение A8) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2010/029082. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамидом (соединение A8) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2010/029082, для лечения нарушения, такого как рак желудка, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак пищеварительного тракта/желудочно-кишечный рак, солидная опухоль и рак головы и шеи.

В одном варианте осуществления ингибитор PI3K или (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамид (соединение A8) вводят в дозе приблизительно 150-300, 200-300, 200-400 или 300-400 мг (например, в сутки), например, приблизительно 200, 300 или 400 мг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором цитохрома P450 (например, ингибитор CYP17) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2010/149755, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор цитохрома P450 (например, ингибитор CYP17) представляет собой соединение, описанное в публикации PCT № WO 2010/149755. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с соединением, описанным в публикации PCT № WO 2010/149755, для лечения рака предстательной железы.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором HDM2 (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1r,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-оном (соединение A10) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2011/076786, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор HDM2 представляет собой (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1r,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение A10) или соединением, описанное в публикации PCT № WO 2011/076786. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1r,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-оном (соединение A10) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2011/076786, для лечения нарушения, такого как солидная опухоль.

В одном варианте осуществления ингибитор HDM2 или (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил(((1r,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он (соединение A10) вводят в дозе приблизительно от 400 до 700 мг, например, вводят три раза в неделю, две 2 недели с введением и одну неделю без введения. В некоторых вариантах осуществления доза составляет приблизительно 400, 500, 600 или 700 мг; приблизительно 400-500, 500-600 или 600-700 мг, например, с введением три раза в неделю.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с хелатирующим железом агентом деферасироксом (также известным как EXJADE; соединение A11) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 1997/049395, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления хелатирующий железом агент представляет собой деферасирокс или соединение, описанное в публикации PCT № WO 1997/049395. В одном варианте осуществления хелатирующий железом агент представляет собой деферасирокс (соединение A11). В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с деферасироксом (соединение A11) или соединением, описанным в публикации PCT № WO1997/049395, для лечения перегрузки железом, гемохроматоза или миелодисплазии.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими

другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором ароматазы лектрозолом (также известным как FEMARA; соединение A12) или соединением, описанным в US 4978672, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор ароматазы представляет собой лектрозол (соединение A12) или соединение, описанное в патенте США 4978672. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с лектрозолом (соединение A12) или соединением, описанным в патенте США 4978672, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, лейомиосаркома, рак эндометрия, рак молочной железы, рак женской репродуктивной системы или гормональный дефицит.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором PI3K, например общим ингибитором PI3K (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипириимидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-оном (соединение A13) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2013/124826, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор PI3K представляет собой (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипириимидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он (соединение A13) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2013/124826. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипириимидин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-оном (соединение A13) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2013/124826, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль или развернутая солидная опухоль.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором p53 и/или взаимодействия p53/Mdm2 (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипириимидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-оном (соединение A14) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2013/111105 для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор p53 и/или взаимодействия p53/Mdm2 представляет собой (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипириимидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-он (соединение A14) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2013/111105. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипириимидин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-оном (соединение A14) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2013/111105, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль или саркома мягких тканей.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором тирозинкиназы CSF-1R 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамидом (соединение A15) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2005/073224, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор тирозинкиназы CSF-1R представляет собой 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид (соединение A15) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2005/073224. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, используют в комбинации с 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамидом (соединение A15) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2005/073224, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с индуктором апоптоза и/или ингибитором ангиогенеза, таким как иматиниба мезилат (также известный как GLEEVEC; соединение A16), или соединением, описанным в публикации PCT № WO1999/003854, для лечения нарушения, например, описанного нарушения. В одном варианте осуществления индуктор апоптоза и/или ингибитор ангиогенеза представляет собой иматиниба мезилат (соединение A16) или соединение, описанное в публикации PCT № WO1999/003854. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с иматиниба мезилатом (соединение A16) или соединением, описанным в публикации PCT № WO1999/003854, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, множественная миелома, рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, лимфома, рак желудка, меланома, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак пищеварительного тракта/желудочно-кишечный рак, рак ободочной и прямой кишки, мультиформная глиобластома, рак печени, рак головы и шеи, астма, рас-

сеянный склероз, аллергия, деменция альцгеймеровского типа, боковой амиотрофический склероз или ревматоидный артрит.

В определенных вариантах осуществления иматиниба мезилат (соединение А16) вводят в дозе приблизительно от 100 до 1000 мг, например приблизительно от 200 мг до 800 мг, приблизительно от 300 мг до 700 мг или приблизительно от 400 мг до 600 мг, например приблизительно 200 мг, 300 мг, 400 мг, 500 мг, 600 мг или 700 мг. Схема дозирования может варьироваться от, например, раза в двое суток до раза в сутки, двух или трех раз в сутки. В одном варианте осуществления иматиниба мезилат вводят в пероральной дозе приблизительно от 100 мг до 600 мг каждые сутки, например приблизительно 100 мг, 200 мг, 260 мг, 300 мг, 400 мг или 600 мг каждые сутки.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором JAK 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамидом (соединение А17) или его дигидрохлоридом или с соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2007/070514, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор JAK представляет собой 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение А17) или его дигидрохлорид или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2007/070514. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамидом (соединение А17) или его дигидрохлоридом или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2007/070514, для лечения нарушения, такого как рак ободочной и прямой кишки, миелоидный лейкоз, гематологическая злокачественная опухоль, аутоиммунное заболевание, неходжкинская лимфома или тромбоцитемия.

В одном варианте осуществления ингибитор JAK или 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид (соединение А17) или его дигидрохлорид вводят в дозе приблизительно 400-600 мг (например, в сутки), например приблизительно 400, 500 или 600 мг или приблизительно 400-500 или 500-600 мг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором JAK, руксолитиниба фосфатом (также известным как JAKAFI; соединение А18) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2007/070514, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор JAK представляет собой руксолитиниба фосфат (соединение А18) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2007/070514. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с руксолитиниба фосфатом (соединение А18) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2007/070514, для лечения нарушения, такого как рак предстательной железы, лимфоцитарный лейкоз, множественная миелома, лимфома, рак легкого, лейкоз, кахексия, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, ревматоидный артрит, псориаз, рак ободочной и прямой кишки, миелоидный лейкоз, гематологическая злокачественная опухоль, аутоиммунное заболевание, неходжкинская лимфома или тромбоцитемия.

В одном варианте осуществления ингибитор JAK или руксолитиниба фосфат (соединение А18) вводят в дозе приблизительно 15-25 мг, например, два раза в сутки. В некоторых вариантах осуществления доза составляет приблизительно 15, 20 или 25 мг или приблизительно 15-20 или 20-25 мг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором деацетилазы (DAC) панобиностатом (соединение А19) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2014/072493, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор DAC ингибитор представляет собой панобиностат (соединение А19) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2014/072493. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с панобиностатом (соединение А19), соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2014/072493, для лечения нарушения, такого как мелкоклеточный рак легкого, рак дыхательных путей/рак грудной полости, рак предстательной железы, множественная миелома, миелодиспластический синдром, рак кости, немелкоклеточный рак легкого, эндокринная злокачественная опухоль, лимфома, неврологическая злокачественная опухоль, лейкоз, ВИЧ/СПИД, иммунное нарушение, отторжение трансплантата, рак желудка, меланома, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак ободочной и прямой кишки, мультиформная глиобластома, миелоидный лейкоз, гематологическая злокачественная опухоль, рак почки, неходжкинская лимфома, рак головы и шеи, нарушения гемопоэза или рак печени.

В одном варианте осуществления ингибитор DAC или панобиностат (соединение А19) вводят в дозе приблизительно 20 мг (например, в сутки).

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела

против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором одного или нескольких из цитохрома P450 (например, 11B2), альдостерона или ангиогенеза, осилодростатом (соединение A20) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2007/024945, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор одного или нескольких из цитохрома P450 (например, 11B2), альдостерона или ангиогенеза представляет собой осилодростат (соединение A20) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2007/024945. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с осилодростатом (соединение A20) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2007/024945, для лечения нарушения, такого как синдром Кушинга, гипертензия, или для терапии сердечной недостаточности.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором IAP, (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамидом (соединение A21) или соединением, описанным в US 8552003, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор IAP представляет собой (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21) или соединение, описанное в патенте США 8552003. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамидом (соединение A21) или соединением, описанным в патенте США 8552003, для лечения нарушения, такого как множественная миелома, рак молочной железы, рак яичника, рак поджелудочной железы или гемопоэтическое нарушение.

В одном варианте осуществления ингибитор IAP, или (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид (соединение A21), или соединение, описанное в US 8552003, вводят в дозе приблизительно 1800 мг, например, один раз в неделю.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором Smoothened (SMO), сонидегиба фосфатом (соединение A22), (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-олом (соединение A25) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2007/131201 или WO 2010/007120 для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор SMO представляет собой сонидегиба фосфат (соединение A22), (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-ол (соединение A25) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2007/131201 или WO 2010/007120. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с сонидегиб фосфатом (соединение A22), (R)-2-(5-(4-(6-бензил-4,5-диметилпиридазин-3-ил)-2-метилпиперазин-1-ил)пиразин-2-ил)пропан-2-олом (соединение A25) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2007/131201 или WO 2010/007120, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, медуллобластома, мелкоклеточный рак легкого, рак предстательной железы, базально-клеточная карцинома, рак поджелудочной железы или воспаление.

В определенных вариантах осуществления сонидегиба фосфат (соединение A22) вводят в дозе приблизительно от 20 до 500 мг, например приблизительно от 40 мг до 400 мг, приблизительно от 50 мг до 300 мг или приблизительно от 100 мг до 200 мг, например приблизительно 50 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг или 300 мг. Схема дозирования может варьироваться от, например, от раза в двое суток до раза в сутки, двух или трех раз в сутки.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором Alk, церитинибом (также известный как ZYKADIA; соединение A23) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2007/131201 для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор Alk представляет собой церитиниб (соединение A23) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2007/131201. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с церитинибом (соединение A23) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2007/131201, для лечения нарушения, такого как немелкоклеточный рак легкого или солидные опухоли.

В одном варианте осуществления ингибитор Alk или церитиниб (соединение A23) вводят в дозе приблизительно 750 мг, например, один раз в сутки.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором JAK и/или CDK4/6 7-

циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамидом (соединение А24) или соединением, описанным в патенте США 8415355 или патенте США 8685980, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор JAK и/или CDK4/6 представляет собой 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение А24) или соединение, описанное в патенте США 8415355 или патенте США 8685980. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамидом (соединение А24) или соединением, описанным в US 8415355 или US 8685980, для лечения нарушения, такого как лимфома, неврологическая злокачественная опухоль, меланома, рак молочной железы или солидная опухоль.

В одном варианте осуществления ингибитор JAK и/или CDK4/6 или 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение А24) вводят в дозе приблизительно 200-600 мг, например, в сутки.

В одном варианте осуществления соединения вводят в дозе приблизительно 200, 300, 400, 500 или 600 мг или приблизительно 200-300, 300-400, 400-500 или 500-600 мг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором рецептора пролактина (PRLR), моноклональной молекулой антитела человека (соединение А26), как описано в патенте США 7867493, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор PRLR представляет собой моноклональное антитело человека (соединение А26), описанное в US 7867493. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с моноклональной молекулой антитела человека (соединение А26), как описано в патенте США 7867493, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, рак предстательной железы или рак молочной железы.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором PIM-киназы N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамидом (соединение А27) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2010/026124, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор PIM-киназы представляет собой N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамид (соединение А27) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2010/026124. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамидом (соединение А27) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2010/026124, для лечения нарушения, такого как множественная миелома, миелодиспластический синдром, миелоидный лейкоз или неходжкинская лимфома.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором передачи сигнала Wnt 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиперазин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамидом (соединение А28) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2010/101849, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор передачи сигнала Wnt представляет собой 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиперазин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение А28) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2010/101849. В одном варианте осуществления ингибитор передачи сигнала Wnt представляет собой 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиперазин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение А28). В одном варианте осуществления TIM-3 молекулу антитела используют в комбинации с 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиперазин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамидом (соединение А28) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2010/101849, для лечения нарушения, такого как солидная опухоль (например, рак головы и шеи, плоскоклеточная карцинома, рак молочной железы, рак поджелудочной железы или рак толстого кишечника).

В определенных вариантах осуществления 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиперазин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид (соединение А28) вводят в дозе приблизительно от 1 до 50 мг, например приблизительно от 2 мг до 45 мг, приблизительно от 3 мг до 40 мг, приблизительно от 5 мг до 35 мг, от 5 мг до 10 мг или приблизительно от 10 мг до 30 мг, например приблизительно 2 мг, 5 мг, 10 мг, 20 мг, 30 мг или 40 мг. Схема дозирования может варьироваться от, например, раза в двое суток до раза в сутки, двух или трех раз в сутки.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими

другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором BRAF энкорафенибом (соединение A29) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2011/025927, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор BRAF представляет собой энкорафениб (соединение A29) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2011/025927. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с энкорафенибом (соединение A29) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2011/025927, для лечения нарушения, такого как немелкоклеточный рак легкого, меланома или рак ободочной и прямой кишки.

В одном варианте осуществления ингибитор BRAF или энкорафениб (соединение A29) вводят в дозе приблизительно 200-300, 200-400 или 300-400 мг, например, в сутки. В одном варианте осуществления соединение вводят в дозе приблизительно 200, приблизительно 300 или приблизительно 400 мг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором CDK4/6 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4,2,1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамидом (соединение A30) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2011/101409, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор CDK4/6 представляет собой 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4,2,1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамид (соединение A30) или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2011/101409. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4,2,1]нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-6-карбоксамидом (соединение A30) или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2011/101409, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, лимфома из клеток мантийной зоны, липосаркома, немелкоклеточный рак легкого, меланома, плоскоклеточный рак пищевода или рак молочной железы.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, молекула как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором HER3, соединением A31 или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2012/022814, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор HER3 представляет собой соединение A31 или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2012/022814. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с соединением A31 или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2012/022814, для лечения нарушения, такого как рак желудка, рак пищевода, рак головы и шеи, плоскоклеточная карцинома, рак желудка, рак молочной железы (например, метастазирующий рак молочной железы) или рак пищеварительного тракта/желудочно-кишечный рак.

В некоторых вариантах осуществления соединение A31 представляет собой моноклональную молекулу антитела человека.

В одном варианте осуществления ингибитор HER3 или соединение A31 вводят в дозе приблизительно 3, 10, 20 или 40 мг/кг, например, один раз в неделю (QW). В одном варианте осуществления соединение вводят в дозе приблизительно 3-10, 10-20 или 20-40 мг/кг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором FGFR2 и/или FGFR4, соединением A32 или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2014/160160 (например, конъюгат молекула антитела-лекарственное средство против FGFR2 и/или FGFR4, например, mAb 12425), для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор FGFR2 и/или FGFR4 представляет собой соединение A32 или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2014/160160. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с соединением A32 или соединением, как описано в табл. 6, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, рак желудка, рак молочной железы, рабдомиосаркома, рак печени, рак надпочечника, рак легкого, рак пищевода, рак толстого кишечника или рак эндометрия.

В некоторых вариантах осуществления соединение A32 представляет собой конъюгат молекула антитела-лекарственное средство против FGFR2 и/или FGFR4, например mAb 12425.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором M-CSF, соединением A33 или соединением, описанным в публикации PCT № WO 2004/045532 (например, молекула антитела или Fab-фрагмент против M-CSF), для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор M-CSF представляет собой соединение A33 или соединение, описанное в публикации PCT № WO 2004/045532. В одном варианте осуществления молекулу

антитела против TIM-3 используют в комбинации с соединением A33 или соединением, как описано в публикации РСТ № WO 2004/045532, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, рак предстательной железы, рак молочной железы или пигментный виллезнодулярный синовит (PVNS).

В вариантах осуществления соединение A33 представляет собой молекулу моноклонального антитела против M-CSF или ее фрагмент (например, Fab-фрагмент). В вариантах осуществления ингибитор M-CSF или соединение A33 вводят в средней дозе приблизительно 10 мг/кг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором MEK, биниметинибом (соединение A34) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2003/077914, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор MEK представляет собой биниметиниб (соединение A34) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2003/077914. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с биниметинибом (соединение A34) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2003/077914, для лечения нарушения, такого как немелкоклеточный рак легкого, полисистемное генетическое нарушение, меланома, рак яичника, рак пищеварительного тракта/желудочно-кишечный рак, ревматоидный артрит или рак ободочной и прямой кишки.

В одном варианте осуществления ингибитор MEK или биниметиниб (соединение A34) вводят в дозе приблизительно 45 мг, например, два раза в сутки.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC мидостаурином (соединение A35) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2003/037347, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор представляет собой мидостаурин (соединение A35) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2003/037347. В одном варианте осуществления ингибитор одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC представляет собой мидостаурин. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с мидостаурином (соединение A35) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2003/037347, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, рак ободочной и прямой кишки, миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, связанная со старением дегенерация желтого пятна, диабетическое осложнение или дерматологическое нарушение.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором TOR (например, ингибитор mTOR) эверолимусом (также известным как AFINITOR; соединение A36) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2014/08 5318, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании). В одном варианте осуществления ингибитор TOR представляет собой эверолимус (соединение A36) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2014/085318. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с эверолимусом (соединение A36) для лечения нарушения, такого как интерстициальное заболевание легких, мелкоклеточный рак легкого, рак дыхательных путей/рак грудной полости, рак предстательной железы, множественная миелома, саркома, связанная со старением дегенерация желтого пятна, рак кости, туберозный склероз, немелкоклеточный рак легкого, эндокринная злокачественная опухоль, лимфома, неврологические нарушения, астроцитомы, рак шейки матки, неврологическая злокачественная опухоль, лейкоз, иммунные нарушения, отторжение трансплантата, рак желудка, меланома, эпилепсия, рак молочной железы или рак мочевого пузыря.

В одном варианте осуществления ингибитор TOR или эверолимус (соединение A36) вводят в дозе приблизительно 2,5-20 мг/сутки. В одном варианте осуществления соединение вводят в дозе приблизительно 2,5, 5, 10 или 20 мг/сутки, например, приблизительно 2,5-5, 5-10 или 10-20 мг/сутки.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором одного или нескольких из VEGFR-2, PDGFR-бета, KIT или Raf-киназы C 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амином (соединение A37) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2007/030377, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор одного или нескольких из VEGFR-2, PDGFR-бета, KIT или Raf-киназы C представляет собой 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин (соединение A37) или соединением, описанное в публикации РСТ № WO 2007/030377. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с 1-метил-5-

((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амином (соединение А37) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2007/030377, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, меланома или солидная опухоль.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с агонистом соматостатина и/или ингибитором высвобождения гормона роста, пасиреотида диаспартатом (также известным как SIGNIFOR; соединение А38) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2002/010192 или патенте США № 7473761 для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления агонист соматостатина и/или ингибитор высвобождения гормона роста представляет собой пасиреотида диаспартат (соединение А38) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2002/010192 или патенте США № 7473761. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с пасиреотида диаспартатом (соединение А38) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2002/010192 или патенте США № 7473761, для лечения нарушения, такого как рак предстательной железы, эндокринная злокачественная опухоль, неврологическая злокачественная опухоль, рак кожи (например, меланома), рак поджелудочной железы, рак печени, синдром Кушинга, желудочно-кишечное нарушение, акромегалия, нарушение печени и желчных путей или цирроз печени.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с модулятором передачи сигнала и/или ингибитором ангиогенеза, довитинибом (соединение А39) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2009/115562, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления модулятор передачи сигнала и/или ингибитор ангиогенеза представляет собой довитиниб (соединение А39) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2009/115562. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с довитинибом (соединение А39) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2009/115562, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, злокачественная опухоль дыхательных путей/злокачественная опухоль грудной полости, множественная миелома, рак предстательной железы, немелкоклеточный рак легкого, эндокринная злокачественная опухоль или неврологическое генетическое нарушение.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором EGFR (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамидом (соединение А40) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2013/184757, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор EGFR представляет собой (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение А40) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2013/184757. В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамидом (соединение А40) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2013/184757, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, например, солидная опухоль.

В одном варианте осуществления ингибитор EGFR или (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизоникотинамид (соединение А40) вводят в дозе 150-250 мг, например, в сутки. В другом варианте осуществления соединение вводят в дозе приблизительно 150, 200 или 250 мг или приблизительно 150-200 или 200-250 мг.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором ALK N⁶-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамином (соединение А42) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2008/073687, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В другом варианте осуществления ингибитор ALK представляет собой N⁶-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамин (соединение А42) или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2008/073687. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с N⁶-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(2-(изопропилсульфонил)фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-4,6-диамином (соединение А42) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2008/073687, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль, анапластическая крупнокле-

точная лимфома (ALCL), немелкоклеточная карцинома легких (NSCLC) или нейробластома.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором IGF-1R 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиэтана 1,1-диоксидом (соединение A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамином (соединение A44) или 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамином (соединение A45) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2010/002655, для лечения нарушения, например описанного нарушения. В одном варианте осуществления ингибитор IGF-1R представляет собой 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиэтана 1,1-диоксид (соединение A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A44), 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамин (соединение A45) или соединением, описанное в публикации РСТ № WO 2010/002655. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиэтана 1,1-диоксидом (соединение A43), 5-хлор-N²-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамином (соединение A44), 5-хлор-N²-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N⁴-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиримидин-2,4-диамином (соединение A45) или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2010/002655, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль или саркома.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором Р-гликопротеина 1, вальсподаром (также известным как AMDRAY; соединение A46) или соединением, описанным в EP 296122, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор Р-гликопротеина 1 представляет собой вальсподар (соединение A46) или соединение, описанное в EP296122. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с вальсподаром (соединение A46) или соединением, описанным в EP296122, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль или устойчивая к лекарственным средствам опухоль.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с одним или несколькими из ингибитора VEGFR, ваталаниба сукцината (соединение A47) или соединения, описанного в EP 296122, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор VEGFR представляет собой ваталаниба сукцинат (соединение A47) или соединение, описанное в EP296122. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с ваталаниба сукцинатом (соединение A47) или соединением, описанным в EP296122, для лечения злокачественной опухоли.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором IDH или соединением, описанным в WO 2014/141104, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор IDH представляет собой соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2014/141104. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с соединением, описанным в WO 2014/141104, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором BCL-ABL или соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641 или WO 2013/171642, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор BCL-ABL представляет собой соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641 или WO 2013/171642. В одном варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3 используют в комбинации с соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2013/171639, WO 2013/171640, WO 2013/171641 или WO 2013/171642, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против TIM-3, например молекулу антитела против TIM-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с ингибитором c-RAF или соединением, опи-

санным в публикации РСТ № WO 2014/151616, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления ингибитор c-RAF представляет собой соединение A50 или соединение, описанное в публикации РСТ № WO 2014/15161 6. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с соединением, описанным в публикации РСТ № WO 2014/151616, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль.

В другом варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3, например молекулу антитела против ТИМ-3, как описано в настоящем описании, отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими иммуномодуляторами, используют в комбинации с конкурентным ингибитором ERK1/2 АТР или соединением, описанным в международной патентной заявке № РСТ/US2014/062913, для лечения нарушения, например нарушения, описанного в настоящем описании. В одном варианте осуществления конкурентный ингибитор ERK1/2 АТР представляет собой соединение, описанное в международной патентной заявке № РСТ/US2014/062913. В одном варианте осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 используют в комбинации с соединением A51 или соединением, описанным в международной патентной заявке № РСТ/US2014/062913, для лечения нарушения, такого как злокачественная опухоль.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 вводят в комбинации с одним или несколькими средствами, выбранными из соединения A8, соединения A17, соединения A23, соединения A24, соединения A27, соединения A29 и соединения A33.

В некоторых вариантах осуществления молекулу антитела против ТИМ-3 вводят в комбинации со средством против злокачественной опухоли, имеющим известную активность в анализе с иммунными клетками, например в одном или нескольких из анализа huMLR, анализа пролиферации Т-клеток и анализа пролиферации В-клеток. Иллюстративные способы анализа описаны ниже. Исходя из этого анализа, для каждого исследуемого средства можно вычислять IC_{50} . В вариантах осуществления средство против злокачественной опухоли имеет IC_{50} , например, 0-1 мкМ, 1-4 мкМ или более 4 мкМ, например 4-10 мкМ или 4-20 мкМ. В вариантах осуществления второе лекарственное средство выбрано из одного или нескольких из: соединения A9, соединения A16, соединения A17, соединения A21, соединения A22, соединения A25, соединения A28, соединения A48 и соединения 49.

В некоторых вариантах осуществления соединение A28 (или соединение, родственное соединению A28) вводят в дозе приблизительно 5-10 или 10-30 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A22 (или соединение, родственное соединению A22) вводят в дозе приблизительно 200 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A17 (или соединение, родственное соединению A17) вводят в дозе приблизительно 400-600 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A16 (или соединение, родственное соединению A16) вводят в дозе приблизительно 400-600 мг п/о в сутки. В некоторых вариантах осуществления соединение A29 (или соединение, родственное соединению A29) вводят в дозе приблизительно 200-400 или 300-400 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A24 (или соединение, родственное соединению A24) вводят в дозе приблизительно 200-600 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A23 (церитиниб) (или соединение, родственное церитинибу) вводят в дозе приблизительно 750 мг один раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления соединение A8 (или соединение, родственное соединению A8) вводят в дозе приблизительно 200-400 или 300-400 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A5 (или соединение, родственное соединению A5) вводят в дозе приблизительно 100-125 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A6 (или соединение, родственное соединению A6) вводят в дозе приблизительно 100 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A1 (или соединение, родственное соединению A1) вводят в дозе приблизительно 200-300 или 200-600 мг. В некоторых вариантах осуществления соединение A40 (или соединение, родственное соединению A40) вводят в дозе приблизительно 150-250 мг. В вариантах осуществления соединение A10 (или соединение, родственное соединению A10) вводят в дозе приблизительно от 400 до 700 мг, например, вводят три раза в неделю, с введением в течение 2 недель и одной неделей без введения. В вариантах осуществления ингибитор BCR-ABL ингибитор вводят в дозе приблизительно 20 мг bid-80 мг bid.

Ниже приведен иллюстративный анализ huMLR и анализ пролиферации В- или Т-клеток.

Реакция смешанных лимфоцитов человека.

Реакция смешанных лимфоцитов (MLR) представляет собой функциональный анализ, который измеряет пролиферативный ответ лимфоцитов одного индивидуума (респондер) на лимфоциты другого индивидуума (стимулятор). Для проведения аллогенной MLR мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) от трех доноров выделяли из лейкоцитарных пленок неизвестного типа HLA (Kantonspital Blutspendezentrum из Берна и Аарау, Швейцария). Клетки приготавливали в количестве 2105 в 0,2 мл культуральной среды, содержавшей RPMI 1640 GlutaMAX™ с 10% эмбриональной телячьей сывороткой (FCS), 100 Е пенициллина/100 мкг стрептомицина, 50 мкг 2-меркаптоэтанол. Индивидуальные 2-направленные реакции проводили путем смешения PBMC от двух различных доноров в соотношении 1:1 и сокультивирование проводили в трех экземплярах в 96-луночных планшетах для культивирования тканей с плоским дном в течение 6 суток при 37°C, 5% CO₂, в присутствии или в отсутствие диапазона концентраций исследуемых соединений из 8 точек. Клетки обрабатывали 3H-TdR (1 мКи/0,2 мл) в течение последних 16 ч культивирования и включенную в них радиоактивность использовали в качестве меры

пролиферации клеток. Для каждого соединения вычисляли концентрацию, которая ингибировала 50% максимального ответа huMLR (IC_{50}). В качестве положительного контроля ингибирования huMLR использовали циклоспорин.

Анализ пролиферации В-клеток человека.

РВМС выделяли непосредственно перед анализом с использованием градиента плотности Ficoll-Paque из крови человека и подвергали негативному выделению В-клеток. В-клетки ресуспендировали в культуральной среде (RPMI 1640, HEPES, 10% FCS, 50 мкг/мл гентамицина, 50 мкМ 2-меркаптоэтанол, 1х ITS (инсулин, трансферрин и селенит натрия), 1х неосновные аминокислоты) в концентрации 9104 на лунку в 96-луночном культуральном планшете с плоским дном. Стимуляцию В-клеток проводили посредством молекулы антитела человека против IgM (30 мкг/мл) и IL-4 (75 нг/мл) или посредством лиганда CD40 (3 мкг/мл) и IL-4 (75 нг/мл) в присутствии или в отсутствие диапазона исследуемых концентраций из 7 точек. После культивирования в течение 72 ч при 37°C, 10% CO₂, клетки обрабатывали 3H-TdR (1 мКи/лунка) в течение последних 6 ч культивирования. Затем В-клетки собирали и измеряли включение тимидина с использованием сцинтилляционного счетчика. Для каждой дублированной обработки вычисляли среднее значение, и эти данные на носили на график в XLfit 4 для определения соответствующих величин IC_{50} .

Анализ пролиферации Т-клеток человека.

РВМС выделяли непосредственно перед анализом с использованием градиента плотности Ficoll-Paque из крови человека и подвергали негативному выделению Т-клеток. Т-клетки приготавливали в культуральной среде (RPMI 1640, HEPES, 10% FCS, 50 мкг/мл гентамицина, 50 мкМ 2-меркаптоэтанол, 1х ITS (инсулин, трансферрин и селенит натрия), 1х неосновные аминокислоты) в концентрации 8104 на лунку в 96-луночном культуральном планшете с плоским дном. Стимуляцию Т-клеток проводили посредством молекулы антитела человека против CD3 (10 мкг/мл) или посредством молекулы антитела против CD3 человека (5 мкг/мл) и молекулы антитела против CD28 (1 мкг/мл) в присутствии или в отсутствие диапазона исследуемых концентраций из 7 точек. После культивирования в течение 72 ч при 37°C, 10% CO₂, клетки обрабатывали 3H-TdR (1 мКи/лунка) в течение последних 6 ч культивирования. Клеточную пролиферацию измеряли по включению тимидина, позволяющему определить IC_{50} для каждого исследуемого соединения.

Средства, подавляющие иммунную систему.

В альтернативном варианте осуществления молекулы антител против TIM-3, описанные в настоящем описании, используют для получения антиидиотипических пептидов или антител (Wallmann, J. et al. (2010) "Anti-Ids in Allergy: Timeliness of a Classic Concept," *World Allergy Organiz. J.* 3(6):195-201; Nardi, M. et al. (2000) "Antiidiotype Antibody Against Platelet Anti-GpIIb/IIIa Contributes To The Regulation Of Thrombocytopenia In HIV-1-ITP Patients," *J. Exp. Med.* 191(12):2093-2100) or mimetics (Zang, Y. C. et al. (2003) "Human Anti-Idiotypic T Cells Induced By TCR Peptides Corresponding To A Common CDR3 Sequence Motif In Myelin Basic Protein-Reactive T Cells," *Int. Immunol.* 15(9):1073-1080; Loiarro, M. et al. (Epub 2010 Apr. 8) "Targeting TLR/IL-1R Signalling In Human Diseases," *Mediators Inflamm.* 2010:674363) против TIM-3. Такие молекулы могут служить в качестве заместителей для TIM-3, и, таким образом, их введение индивидуума подавляет иммунную систему такого индивидуума путем имитации или содействия связыванию лиганд-TIM-3. Такие молекулы применимы для лечения реакции "трансплантат против хозяина". Аналогично, антитела-агонисты, которые i) усиливают связывание между такими антителами и таким рецептором/лигандом или ii) запускают передачу сигнала, когда они связаны непосредственно с лигандом TIM-3 или TIM-3, являются применимыми в качестве агонистов передачи сигнала TIM-3 и, таким образом, пригодны для лечения воспаления и аутоиммунного заболевания посредством прямого или непрямого антагонизма активности рецептора.

Биспецифические антитела, проявляющие иммуноспецифическое связывание как с TIM-3, так и с лигандами TIM-3, способны связываться как с APC, так и с Т-клетками, и, таким образом, способствовать сококализации APC и Т-клеток. Такая сококализация способствует способности таких клеток связываться друг с другом через лиганд TIM-3 и молекулы TIM-3, которые не находятся в комплексе с антителом, или посредством соингибиторных молекул. Такое связывание обеспечивает подавление иммунной системы реципиента.

Подавление иммунной системы является желательным при лечении воспалительных и аутоиммунных заболеваний, и реакции "трансплантат против хозяина" (GvHD). Примеры аутоиммунных нарушений, которые можно лечить посредством введения антител по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, очаговую алопецию, анкилозирующий спондилит, антифосфолипидный синдром, аутоиммунную болезнь Аддисона, аутоиммунные заболевания надпочечника, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный гепатит, аутоиммунный оофорит и орхит, аутоиммунную тромбоцитопению, болезнь Бехчета, буллезный пемфигоид, кардиомиопатию, брюшные афты-дерматит, синдром хронической усталости и иммунной дисфункции (CFIDS), хроническую воспалительную демиелинизирующую полиневропатию, синдром Черджа-Стросс, рубцовый пемфигоид, синдром CREST, болезнь холодного агглютина, болезнь Крона, дискоидную волчанку, эссенциальную смешанную криоглобулинемию, фибромиалгию-фибромиозит, гломерулонефрит, болезнь Грэйвса, синдром Гийена-Барре, ти-

реоидит Хашимото, идиопатический фиброз легких, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП), IgA-невропатию, ювенильный артрит, красный плоский лишай, обыкновенную волчанку, болезнь Менъера, смешанное заболевание соединительной ткани, рассеянный склероз, оптический нейромиелиит (НМО), сахарный диабет 1 типа или иммуноопосредуемый сахарный диабет, миастению, пемфигус обыкновенный, пернициозную анемию, узелковый полиартериит, полихондрит, полигландулярные синдромы, ревматическую полимиалгию, полимиозит и дерматомиозит, первичную агаммаглобулинемию, первичный биллиарный цирроз, псориаз, псориатический артрит, феномен Рейно, синдром Рейтера, ревматоидный артрит, саркоидоз, склеродермию, синдром Шегрена, синдром мышечной скованности, системную красную волчанку, обыкновенную волчанку, артериит Такаясу, височный артериит/гигантоклеточный артериит, поперечный миелит, язвенный колит, увеит, васкулит, такой как герпетиформный дерматит васкулит, витилиго и гранулематоз Вегенера.

Примеры воспалительных нарушений, которые можно предупреждать, лечить или контролировать способами по изобретению, включают, но не ограничиваются ими, астму, энцефалит, воспалительное заболевание кишечника, хроническое обструктивное заболевание легких (СОРД), аллергические нарушения, септический шок, фиброз легких, недифференцированную спондилоартропатию, недифференцированную артропатию, артрит, воспалительный остеозит и хроническое воспаление вследствие хронических вирусных или бактериальных инфекций.

Таким образом, антитела и антигенсвязывающие фрагменты по настоящему изобретению могут быть использованы для лечения воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

Диагностическое применение

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к диагностическому способу для обнаружения присутствия белка TIM-3 *in vitro* (например, в биологическом образце, таком как биоптат ткани, например, из злокачественной ткани) или *in vivo* (например, визуализация у индивидуума *in vivo*). Способ включает: (i) приведение в контакт образца с молекулой антитела, описанной в настоящем описании, или введение индивидууму молекулы антитела; (необязательно), (ii) приведение в контакт эталонного образца, например контрольного образца (например, контрольный биологический образец, такой как плазма, ткань, биоптат) или контрольного индивидуума с молекулой антитела, описанной в настоящем описании; и (iii) обнаружение образования комплекса между молекулой антитела и образцом или индивидуумом или контрольным образцом или индивидуумом, где изменение, например статистически значимое изменение, образования комплекса в образце или у индивидуума относительно контрольного образца или индивидуума указывает на присутствие TIM-3 в образце. Молекулу антитела можно прямо или непрямо метить поддающимся обнаружению веществом для облегчения обнаружения связанного или несвязанного антитела. Подходящие поддающиеся обнаружению вещества включают различные ферменты, простетические группы, флуоресцентные материалы, люминесцентные материалы и радиоактивные материалы, как описано выше и как более подробно описано ниже.

Термин "образец", как используют для образцов, используемых для обнаружения полипептидов, включает, но не ограничивается ими, клетки, клеточные лизаты, экстракты белков или мембран клеток, жидкости организма, такие как образцы крови или тканей.

Образование комплекса между молекулой антитела и TIM-3 можно обнаружить путем измерения или визуализации либо молекулы антитела, связанной с антигеном TIM-3, либо несвязанной молекулы антитела. Можно использовать любые подходящие способы анализа для обнаружения, и общепринятые способы анализа для обнаружения включают твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), радиоиммунный анализ (RIA) или иммуногистохимию тканей. Альтернативно мечению молекулы антитела присутствие TIM-3 в образце можно анализировать посредством конкурентного иммуноанализа с использованием стандартов, меченных поддающимся обнаружению веществом, и немеченой молекулы антитела. В том анализе биологический образец, меченые стандарты и молекулу антитела объединяют и определяют количество меченого стандарта, связанного с немеченой связывающей молекулой. Количество TIM-3 в образце обратно пропорционально количеству меченого стандарта, связанного с молекулой антитела.

В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к способам, в которых используется молекула антитела против TIM-3, для диагностики сепсиса, SIRS (синдром системного воспалительного ответа), преэклампсии или гломерулонефрита. Сепсис часто сопровождается подавлением TIM-3 (Yang et al., *J Immunol.* 2013 Mar 1;190(5):2068-79), так что сниженные уровни TIM-3 указывают на сепсис, в то время как нормальные уровни TIM-3 являются признаком того, что сепсис отсутствует. При SIRS и преэклампсии уровни TIM-3 снижаются в периферических лимфоцитах (Miko et al., *PLoS ONE* 8(8):e71811), так что сниженные уровни TIM-3 указывают на SIRS или преэклампсию, в то время как нормальные уровни TIM-3 указывают на то, что SIRS и преэклампсия не присутствуют. При гломерулонефрите TIM-3 может активироваться (см. Schroll et al., *Am J Pathol* 2010 April; 176(4):1716-1742), так что повышенные уровни TIM-3 указывают на гломерулонефрит, в то время как нормальные уровни указывают на то, что гломерулонефрит не присутствует.

Нуклеиновые кислоты

Настоящее изобретение также относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидные по-

следовательности, которые кодируют переменные области тяжелой и легкой цепей и CDR молекул антител против ТИМ-3, как описано в настоящем описании. Например, настоящее изобретение относится к первой и второй нуклеиновой кислоте, кодирующей переменные области тяжелой и легкой цепей, соответственно, молекулы антитела против ТИМ-3, выбранной из одной или нескольких из молекул антител, описанных в настоящем описании, например антитела, представленного в табл. 1-4. Нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую любую из аминокислотных последовательностей, представленных в таблицах в настоящем описании, или последовательность, по существу идентичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичная ей или отличающаяся не более чем на 3, 6, 15, 30 или 45 нуклеотидов от последовательностей, представленных в табл. 1-4).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR из переменной области тяжелой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну или несколько замен, например, консервативных замен). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR из переменной области легкой цепи, имеющей аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну или несколько замен, например, консервативных замен). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR из переменных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих аминокислотную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или имеющую одну или несколько замен, например, консервативных замен).

В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR из переменной области тяжелой цепи, имеющей нуклеотидную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или способную гибридизоваться в условиях жесткости, описанных в настоящем описании). В некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую по меньшей мере одну, две или три CDR из переменной области легкой цепи, имеющей нуклеотидную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или способную гибридизоваться в условиях жесткости, описанных в настоящем описании). В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота может содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую по меньшей мере одну, две, три, четыре, пять или шесть CDR из переменных областей тяжелой и легкой цепей, имеющих нуклеотидную последовательность, как указано в табл. 1-4, или последовательность, по существу гомологичную ей (например, последовательность, по меньшей мере приблизительно на 85%, 90%, 95%, 99% или более идентичную ей и/или способную гибридизоваться в условиях жесткости, описанных в настоящем описании). Нуклеиновые кислоты, описанные в настоящем описании, включают дезоксирибонуклеотиды или рибонуклеотиды, или их аналоги. Полинуклеотид может быть либо одноцепочечным, либо двухцепочечным, и, если он является одноцепочечным, он может представлять собой кодирующую цепь или не кодирующую (антисмысловую) цепь. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, такие как метилированные нуклеотиды и аналоги нуклеотидов. Последовательность нуклеотидов может прерываться ненуклеотидными компонентами. Полинуклеотид, кроме того, можно модифицировать после полимеризации, например, посредством конъюгации с компонентом для мечения. Нуклеиновая кислота может представлять собой рекомбинантный полинуклеотид или полинуклеотид, происходящий из генома, кДНК, полусинтетический или синтетический, который либо не встречается в природе, либо связан с другим полинуклеотидом в неприродной компоновке.

В некоторых аспектах, заявка относится к клеткам-хозяевам и векторам, содержащим нуклеиновые кислоты, описанные в настоящем описании. Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в одном векторе или в отдельных векторах, находящихся в той же клетке-хозяине или в отдельной клетке-хозяине, как более подробно описано ниже.

Векторы

Кроме того, в рамках настоящего изобретения предусматриваются векторы, содержащие нуклеотидные последовательности, кодирующие молекулу антитела, описанную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления векторы содержат нуклеотиды, кодирующие молекулу антитела, описанную в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления векторы содержат нуклеотидные

последовательности, описанные в настоящем описании. Векторы включают, но не ограничиваются ими, вирус, плазмиду, космиду, фаг лямбда или искусственную хромосому дрожжей (YAC).

Можно использовать многочисленные векторные системы. Например, в одном классе векторов используются ДНК-элементы, которые происходят из вирусов животных, например таких, как вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус полиомы, аденовирус, вирус коровьей оспы, вакуловироз, ретровирусы (вирус саркомы Рауса, MMTV или MOMLV) или вирус SV40. В другом классе векторов используются РНК-элементы, происходящие из РНК-вирусов, таких как вирус леса Семлики, вирус восточного энцефалита лошадей и флавивирусы.

Кроме того, селекцию клеток, которые имеют стабильно встроенную ДНК в их хромосомы, можно проводить путем внесения одного или нескольких маркеров, которые позволяют проведение селекции трансфицированных клеток-хозяев. Маркер может обеспечивать, например, прототропию ауксотрофному хозяину, устойчивость к биоцидам (например, антибиотикам) или резистентность к тяжелым металлам, таким как медь или сходные с ней. Ген селективного маркера может быть либо прямо связан с последовательностями ДНК, подлежащими экспрессии, либо он может быть введен в ту же клетку посредством сотрансформации. Для оптимального синтеза мРНК могут потребоваться дополнительные элементы. Эти элементы могут включать сигналы сплайсинга, а также промоторы транскрипции, энхансеры и сигналы терминации.

После получения экспрессирующего вектора или последовательности ДНК, содержащей конструкции, для экспрессии, экспрессирующие векторы можно трансфицировать или вводить в соответствующую клетку-хозяина. Для достижения этого можно использовать различные способы, например такие, как слияние протопластов, осаждение с фосфатом кальция, электропорация, ретровирусная трансдукция, вирусная трансфекция, генная пушка, трансфекция на липидной основе или другие общепринятые способы. В случае слияния протопластов клетки выращивают в среде и подвергают скринингу в отношении соответствующей активности.

Способы и условия клонирования полученных трансфицированных клеток и выделения продуцированной молекулы антитела известны специалистам в данной области, и их можно варьировать или оптимизировать в зависимости от конкретного используемого экспрессирующего вектора и клетки-хозяина млекопитающих, исходя из настоящего описания.

Клетки

Настоящее изобретение также относится к клеткам-хозяевам, содержащим нуклеиновую кислоту, кодирующую молекулу антитела, как описано в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева генетически модифицированы так, чтобы они содержали нуклеиновые кислоты, кодирующие молекулу антитела.

В определенных вариантах осуществления клетки-хозяева модифицируют способами генной инженерии с использованием экспрессирующей кассеты. Выражение "экспрессирующая кассета" относится к нуклеотидным последовательностям, которые способны влиять на экспрессию гена у хозяев, совместимых с такими последовательностями. Такие кассеты могут включать промотор, открытую рамку считывания с интронами или без них и сигнал терминации. Также можно использовать дополнительные факторы, необходимые или полезные для достижения экспрессии, например такие, как индуцибельный промотор.

Также изобретение относится к клеткам-хозяевам, содержащим векторы, описанные в настоящем описании.

Клетка может представлять собой, но не ограничивается ими, эукариотическую клетку, бактериальную клетку, клетку насекомых или клетку человека. Подходящие эукариотические клетки включают, но не ограничиваются ими, клетки Vero, клетки HeLa, клетки COS, клетки CHO, клетки HEK293, клетки ВНК и клетки MDCKII. Подходящие клетки насекомых включают, но не ограничиваются ими, клетки Sf9.

Иллюстративные последовательности антител против TIM-3 описаны в табл. 1-4 ниже.

Таблица 1. Обобщение последовательностей антитела мыши АВТІМ3.

Обозначение антитела	SEQ ID NO	Описание
АВТІМ3	1	Аминокислотная последовательность VH
	2	Аминокислотная последовательность VL
	3	Аминокислотная последовательность VHCDR1
	4	Аминокислотная последовательность VHCDR2
	5	Аминокислотная последовательность VHCDR3
	6	Аминокислотная последовательность VLCDR1
	7	Аминокислотная последовательность VLCDR2
	8	Аминокислотная последовательность VLCDR3

Таблица 2. Обнаружение аминокислотных последовательностей варибельного домена тяжелой цепи и варибельного домена легкой цепи антитела мыши АВТІМ3. CDR показаны белым текстом на черном фоне.

SEQ ID NO	Последовательность
1	QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYNMH WIKQT PGQGLEWIGD I YPGNGDTSY NQKFKG KATL TADKSSSTVY MQLSSLTSED SAVYYCARVG G AFFPMDYWGQ GTSVTVSS
2	DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCR R ASESVE YYGTS L MQWY QQKPGQPPKL LIYA A ASN V ES GVPARFSGSG SGTDFSLNIH PVEEDDIAIY FC Q SR K DP S I FGGGTKLEI K

Таблица 3. Аминокислотные последовательности CDR тяжелой цепи и CDR легкой цепи антитела мыши АВТІМ3.

SEQ ID NO	Последовательность
3	SYNMH
4	DIYPGNGDTSYNQKFKG
5	VGGAFPMDY
6	RASESVEYYGTS L MQ
7	AASN V ES
8	Q Q SR K DP S T

Иллюстративные последовательности антител против ТІМ-3 описаны в табл. 4. Молекулы антител включают АВТІМ3 мыши и гуманизированные молекулы антител. Показаны аминокислотные и нуклеотидные последовательности CDR тяжелой и легкой цепей, варибельные последовательности тяжелой и легкой цепей, и тяжелые и легкие цепи.

Таблица 4. Обобщение последовательностей иллюстративных антител против ТИМ-3.

Клон гибридомы		
ABTIM3		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 1	VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTFSYNMHWIKQTPGQGLEWIGDIYPNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTVYMQLSLTSSEDSAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO: 11	ДНК, VH	CAGGTGCAACTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTCAGTGAAGATGTCCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACATTTACCAGTTACAATATGCACTGGATAAAGCAGACACCTGGACAGGGCCTGGAATGGATTGGAGATATTTATCCAGGAAATGGTGATACTTCTACAATCAGAAATTCAAAGGCAAGGCCACATTTGACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGTCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGTGGGGGTGCCTTCTCTATGGACTACTGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCTCA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 2	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPARFSGSGSGTDFSLNIHPVEEDDIAIYFCQQSRKDPSTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 15	ДНК, VL	GACATTTGTCTCACCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGAGACCACCATCTCCTGCAGAGCCAGTGAAGTGTGAATATTTATGGCACAAGTTAATGCAGTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCAACTCCTCATCTATGCTGCATCCAACGTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCAACATCCATCCTGTGGAGGAGGATGATATTGCAATATATTTCTGTGACGAAAGTAGGAAGGATCCTTCGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAGATCAAA
ABTIM3-hum01		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 16	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTFSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIYPNGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 17	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTCTCTTGTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTTCGCCAGGCCCCAGGGCAAGGGCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAAGGTTAGAGCTACTATGACCCCGGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTCTAGTCCCAGGTTCTGAGGCTGAGGACACCGCTCTACTACTGCGCTAGAGTGGCGGAGCCCTTCCCTATGGACTACTGGGTCAAGGCACCCCTGGTCAACCGTCTTAGC
SEQ ID NO: 18	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTFSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIYPNGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHFTPAVLQSSGLYSLSVTVTVSSSLGKTYTCNVNDRKSNKVDKRVESKYGPPCPPEPFLGGPSVFLPFPKPKDLMISRTPETVCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNYHTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 19	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTCTCTT GTAAAGCTAGTGGTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTCGCGCAGGCCAGGGCA GGGCTCGAGTGGATCGGCATATCTACCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGCTACTATGACCGCGGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTCTAGTTC TGAGTCTGAGGACACCGCCGCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCTGAGACTA CTGGGGTCAAGGCACCGTGGTACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTCC CTGGCACCTTGTAGCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGACACCTT CCCCGTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGACTCGTGTGCTGCGTGGTCAAGGTCACCTTCACT AGCCTGGTACCAAGACTTACCTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACA AGCGCGTGAATCGAAGTACGGCCACCGTGGCCGCTTGTCCCGCGCGGAGTTCCTCGGCGG TCCCTCGGTCTTCTGTGCCACCGAAGCCCAAGGACACTTGTGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTCTGAGCGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGACAGTTCAATTGGTACGTTG ATGGCTCGAGGTGCACAACGCCAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCACTCCACTTACCG CGTGTGTCGCTGCTGACGGTGTGCTGATCAGGACTGGCTGACCGGGAAGGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCAACAAGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGAAAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGACTCAGACGGATCCTTCTTCTCTACT CGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTCAAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 20	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSDFTLTISLQAEDVAVYYCQQRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 21	ДНК, VL	GATATCGTCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCGATGGTATCAGCAGAA GCCCGTCAACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCCTCTAACGTGGAATCAGCGTGCCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCCTGACTATTAGTAGCCTGACAGCGGAGG ACGTGGCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 22	Легкая цепь	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSDFTLTISLQAEDVAVYYCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRVAAPSVEIFPPSDEQ LKSGTASVVLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 23	ДНК, легкая цепь	GATATCGTCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCGATGGTATCAGCAGAA GCCCGTCAACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCCTCTAACGTGGAATCAGCGTGCCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCCTGACTATTAGTAGCCTGACAGCGCGAG ACGTGGCCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCACGCTGTTTCATCTTCCCCCGAGCAGCAGCAG CTGAAGAGCGGCACCGCAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAACCTTACCCCGGGAGGCAAGG TGCAGTGAAGGTGGACAACCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCAACGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCGTACCAAGAGCTTCA ACAGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum02		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY

SEQ ID NO: 26	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSTSYNHWVRQAPGGLEWIGDIYPGSGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 27	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTTAGCTGTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACCTGGGTTCGCCAGGCCCAAGTCAAGGCCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGTAGCGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAAGGGTAGAGCTACTATGACCCCGGATAAAGTCTACTAGCACCGCTATATGGAAGTACTAGTCCCTGAGGCTCTGAAGATACCCCGCTCTACTACTGCGCTAGAGTGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCTTGGTCAACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 28	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSTSYNHWVRQAPGGLEWIGDIYPGSGDTSYNQKFKGRATMTADKSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLPAPCSRSTSESTAALGLVVDYFPEPVTVSNWNSGALTSVHFTFPAVLQSSGLYSLSVVVTPSSSLGTRKTYTCNVDHKPSNTRKVRVESKYGPPCPAPPEFLGGPSVFLFPPPKPDKLMSIRTPKVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGYFSPDIAVEWEWSNGQPENNYKTTFPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLG
SEQ ID NO: 29	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTTAGCTGTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACCTGGGTTCGCCAGGCCCAAGTCAAGGCCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGTAGCGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTTAAAGGGTAGAGCTACTATGACCCCGGATAAAGTCTACTAGCACCGCTATATGGAAGTACTAGTCCCTGAGGCTCTGAAGATACCCCGCTCTACTACTGCGCTAGAGTGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTACTGGGGTCAAGGCACCTTGGTCAACCGTGTCTAGCGCTAGCCTAAGGCGCCGCTCGGTGTCCCTTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGTGCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTTGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTTCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGACTCGCTGTCTGCGTGGTCAACGGTGCCTTCACTAGCCTGGTACCAAGACCTACACTTGCACAGTGGACCAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACAAGCGCGTCGAATCGAAGTACGGGCCACCGTGCCCGCTTGTCCCGCGCCGAGTTCCTCGCGGGTCCCTCGGTCTTCTGTTCACCCGAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTGTGACGAGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGATGGCGTGCAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCACTCCACTTACCGCGTCCGTGCTGCTGACCGTGTGCATCAGGACTGGTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCAACAAGGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAGCCAAAGGACAGCCCCGGGAACCCCAAGTGTATACCCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATTGACTTGCCTTGTGAAGGGCTTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGAGTCCAACGGCCAGCCGGAACCAACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGACTCAGACGGATCCTTCTTCTCTACTCGCGGTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTFTCAGCTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACTCAGAAGTCCCTGTCCCTTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSIMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 20	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQPPLLIYAASNVESGVPRFSGSGSDFTFLTISSLQAEDVAVYYCQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 21	ДНК, VL	GATATCGTCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCGTCAAGCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCACTACGGCACTAGCCTGATGCAAGTGTATCAGCAGAA GCCCGGTCAACCCCTAAGTGTGATCTACCGCCCTCAACGTGGAATCAGCGTGCAGGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGTTCACCTGACTATTAGTAGCTGCAGGCCGAGG ACGTGGCCGTCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCTAGCACCTTCCGGGAGGCACTAA GGTGAGATTAAG
SEQ ID NO: 22	Легкая цепь	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQPPLLIYAASNVESGVPRFSGSGSDFTFLTISSLQAEDVAVYYCQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSPDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTKSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 23	ДНК, легкая цепь	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCGATGGTATCAGCAGAA GCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGGCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGTAGTGGCACCAGCTTCACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCGGAGG ACGTGGCCGCTACTACTGTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTCCCCCGCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGACCCGACGCTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCGGAGGCAAGG TGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCACCCGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCGGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGCGCTGTCCAGCCCGTGACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum03		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTF TSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 32	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF TSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIYPGQDTSYNQKFK KGRATMTADKSTSTVYME LSSLRSEDTAVVYCARVGGAFPM DYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 33	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTTAGCT GTAAGCTAGTGGCTATACTTTCACCTCTTATAATATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCA AGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCGGTCAAGGCGACACTTCTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGTACTATGACCGCGGATAAGTCTACTTCTACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCC TGAGGTCTGAGGACACCCCGCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCAATGGACTA CTGGGTCAAGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGCCTAGCACTAAGGCGCGTCCGTTCCCC
SEQ ID NO: 34	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTF TSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIYPGQDTSYNQKFK KGRATMTADKSTSTVYME LSSLRSEDTAVVYCARVGGAFPM DYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTRKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYRSLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO: 35	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTTAGCT GTAAGCTAGTGGCTATACTTTCACCTCTTATAATATGCACTGGGTCCGCCAGGCCCCAGGTCA AGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCGGTCAAGGCGACACTTCTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGTACTATGACCGCGGATAAGTCTACTTCTACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCC TGAGGTCTGAGGACACCCCGCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCAATGGACTA CTGGGTCAAGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGCCTAGCACTAAGGCGCGTCCGTTCCCC CTGGCACCTTGTAGCCGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGAGTGCACACCTT CCCCGCTGTCTGCAGAGCTCCGGGCTGACTCGCTGTCTGCTGGTGGTACCGTCCCTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGTGGACA AGCGCGTCGAATCGAAGTACGCGCCACCGTCCCGCCTTGTCCCGCGCGGAGTTCCTCGCGG TCCCTCGGCTTCTGTTCACCCAGGCAAGGACACTTGTATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGCACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTC AATGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAACCAAGCCGAGGAGGAGCAGTTC AACTCCACTTACCG CGTCGTGTCGGTGTGACCGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGC AAA GTGTCCAACAAGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAAGCCAAAGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTACCCATCGGATATCGCGTGGAAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCCTACT CGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTACAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACACCACTACTCAGAAGTCCCTGTCCCTTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYG TSLMQ

SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 20	VL	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFGSGSGTDFTLTISLQAEDEVAVYQCQQSRKDPSTFGGGTRKVEIK
SEQ ID NO: 21	ДНК, VL	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCAGTACGCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCCGTCACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTCACCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGG ACGTGGCCGCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCTAGCACCTTCGGGCGAGGCATAA GGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 22	Легкая цепь	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFGSGSGTDFTLTISLQAEDEVAVYQCQQSRKDPSTFGGGTRKVEIKRTVAAPSVFIFPPSPDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLTKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 23	ДНК, легкая цепь	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCAGTACGCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCCGTCACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTCACCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGG ACGTGGCCGCTACTACTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCTAGCACCTTCGGGCGAGGCATAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCCGACGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTACCCCGGAGGCCAAGG TGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTACCCGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGCCGTCCAGCCCGTGACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum04		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTF TSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 36	VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSKASGYTF TSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIYPNGDTSYNQKF KGRATLTDKSTSTVYME LSSLRSEDVAVYCARVGGAFPM DYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 37	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTTTCTT GTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCAGTGGATTAGACAGGCCCCAGGGCA GGCCTCGAGTGGATCGCGGATATCTACCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGCTACCTGACCGCGGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTCCC TGAGGTCTGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCTATGACTA CTGGGGGACAGGCACCTGGTACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 38	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSKASGYTF TSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIYPNGDTSYNQKF KGRATLTDKSTSTVYME LSSLRSEDVAVYCARVGGAFPM DYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPS SLGKTYTCNV DHPKSNKVDKRVESKYPPCPPEFLGGPSVFLFPKPKDMLISRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 39	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTTTCTT GTAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGATTAGACAGGCCCCAGGGCA GGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGGAACGGCGACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGTACCCCTGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGAACTGAGTTCCC TGAGGTCTGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTA CTGGGGCAGGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCT CTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGTGCCTCGGCTGCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGACACCTT CCCCGTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCTCGTGGTACCGTGCCTTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACA AGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCACCCTGCCCGCCTTGTCCCGCGCGGAGTTCTCCGGCGG TCCCTCGGTCTTCTGTTCCACCGAAGCCCAAGGACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTCTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGAGTTCAATTTGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCACTCCACTTACCG CGTGTGTTCCGTGTGACCGTGTGCATCAGGACTGGTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCACAAGGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAAGGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGAAAACAACATAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCCCTACT CGCGGTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTACAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 40	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGGGKVEIK
SEQ ID NO: 41	ДНК, VL	GATATCGTCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGTCAACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCTGACTATTAGTAGCCTGAGGCCGAGG ACGTGGCCGTCTACTTCTGTGACGAGTCTAGGAAGGACCTTAGCACCTTCCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 42	Легкая цепь	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 43	ДНК, легкая цепь	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCCGTCAACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGG ACGTGGCCGCTACTTCTGTGACAGCTTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCCAGCGTGGTGTGCCTGTGAACAATTCTACCCCGGAGGCCAAGG TGCACTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGCAACAGCCAGGAGAGCGTCCACGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTAGCCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum05		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 44	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIYPGSDTSYNQKF KGRATLTADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYCARVGGAFPM DYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 45	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCAAGCGTTAAAGTCTCAT GTAAAGCTAGTGGTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGATTAGACAGGCCCCAGGGCA AGGCCCTGGAGTGGATCGCGGATATCTACCCCGTAGCGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGCTACCCGTACCGCGGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGTCC TGAGGAGTGAAGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACCCGTGGTCACCGTGTCAAGC
SEQ ID NO: 46	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIYPGSDTSYNQKF KGRATLTADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYCARVGGAFPM DYWGQGLVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPS SLGKTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDLMISRPE VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEVESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKLSLSLGG
SEQ ID NO: 47	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCAAGCGTTAAAGTCTCAT GTAAAGCTAGTGGTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGATTAGACAGGCCCCAGGGCA AGGCCCTGGAGTGGATCGCGGATATCTACCCCGTAGCGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGCTACCCGTACCGCGGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGTCC TGAGGAGTGAAGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACCCGTGGTCACCGTGTCAAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTCC CTGGCACCTTGTAGCGGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGGAGCCCGTACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTT CCCCGTGTGTGCAGAGCTCCGGGTGTACTCGTGTCTGCGTGGTGCAGGTTTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACTTACTTGCACCGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACA AGCGCGTGAATCGAAGTACGGCCACCGTCCCGCCTTGTCCCGCGCGGAGTTCCTCGCGG TCCCTCGGTCTTCTGTGCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTGTGACGCTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCATTTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTACCG CGTGTGTCCGTGTGACGGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGA GTGTCCAACAAGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAAGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGGAAAAACAATAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCTTCTCTCTACT CGCGGTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTACAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ

SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 40	VL	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFLTLSLQAEADVAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 41	ДНК, VL	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGCCGAGG ACGTGGCCGCTACTTCTGTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 42	Легкая цепь	DIVLTQSPDLSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQPPLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFLTLSLQAEADVAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQ LKSGTASVCLLNFPYPRKAVQKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 43	ДНК, легкая цепь	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGG ACGTGGCCGCTACTTCTGTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCGAGCAGCAGCAG CTGAAGAGCGGCACCCGCGGTGGTGTGCTGCAACAACCTTACCCCGGGAGGCAAGG TGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTACCAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCACCAGGCGCTGTCCAGCCCGTGACCAAGAGCTTCA ACAGGGCGGAGTGC
ABTIM3-hum06		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 48	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIYPGQDTSYNQKF KGRATLTADKSTSTVYMEISSLRSEDVAVYCARVGGAFPMDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 49	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCGAAGTGAAGAAACCCGGCGTAGTGTGAAAGTCTCTT GTAAAGCTAGTGGTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGATTAGACAGGCCCCAGGTCA AGGCCTCGAGTGGATCGCGGATATCTACCCCGTCAAGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGCTACCCGACCCGCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGGTCCC TGAGGTCTGAGGACACCCGCTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACCCCTGGTCACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 50	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFSTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIYPGQDTSYNQKF KGRATLTADKSTSTVYMEISSLRSEDVAVYCARVGGAFPMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHFFAVLQSSGLYSLSVTVTPSS SLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPPKKDTLMISRTPE VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRITVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 51	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCGCTAGTGTGAAAGTCTCTT GTAAAGCTAGTGGTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGATTAGACAGGCCCCAGGTCA AGGCCTCGAGTGGATCGGCGATATCTACCCCGGTCAAGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGCTACCCCTGACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAACTGAGTTCCC TGAGGTCTGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACCCCTGGTCAACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTC CTGGCACCTTGTAGCCGGAGCACTAGCGAATCCACCGTGCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGGAGCCCGTACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTT CCCCGCTGTGCTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGTGTCTGTCGGTGGTCAAGTGCCTTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACA AGCGCGTCAATCGAAGTACGGCCACCGTGCCTCGCTTGTCCCGCGCCGAGTTCCCTCGGCGG TCCCTCGGTCTTCTGTTCACCGAAGCCAAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATCGTGGTCTGTGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCG CGTGTGTCCTGCTGACGGTGTGCATCAGGACTGGTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGA GTGTCCAACAAGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCCAAGGGACAGCC GGGAACCCCAAGTGTATACCCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGGAAAACAATAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACCGATCCTTCTCTCTACT CGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTGAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 40	VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCREASESVEYYGTSLMQWYQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFSGGKTKVEIK
SEQ ID NO: 41	ДНК, VL	GATATCGTCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCGAGTGGTATCAGCAGAA GCCCCGTCAACCCCTAAGCTGTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCTGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGG ACGTGCGCGTCTACTTCTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 42	Легкая цепь	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCREASESVEYYGTSLMQWYQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFSGGKTKVEIKRVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWQVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSLSTLTKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 43	ДНК, легкая цепь	GATATCGTCCTGACTCAGTCACCCGATAGCCTGGCCGTCAGCCTGGGCGAGCGGGCTACTATTA ACTGTAGAGCTAGTGAATCAGTTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGTCAACCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGGCCGAT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCTGACTATTAGTAGCCTGCAGGCCGAGG ACGTGGCCGCTACTTCTGTGAGCAGTCTAGGAAGGACCCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCGAGCAGCAGCAG CTGAAGAGCGGCACCCGAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCGGGAGGCCAAGG TGCAGTGGAAAGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCCAGGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCCCTGCGAGGTGACCACCCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum07		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 36	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIYPNGDTSYNQKF KGRATLTADKSTSTVYMELSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 115	ДНК, VH	Caggtccagctggtccagagcggagcagaggtcaaaaagcccgagcaagcgtgaaggtctcat gcaaagcaagcggatacacatcttacatcacaacatgcactggatcaggcaggtccaggaca gggactggagtggatcggggacatctaccctggaaacggcgatactagctataatcagaagttc aaagggccggccaccctgacagctgacaagctactagtagcctgtatatggagctgagctccc tgcggtctgaagataccgcagtgactattgcgccagagtcggggggcatttccatggatta ttggggcgagggactctggtcactgtctctctcc
SEQ ID NO: 116	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYFTTSYNMHWIRQAPGQGLEWIGDIYPNGDTSYNQKF KGRATLTADKSTSTVYMELSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYLSVVTVPS SLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPDLMISRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNYTQKLSLSLGLK
SEQ ID NO: 117	ДНК, тяжелая цепь	caggtccagctggtccagagcggagcagaggtcaaaaagcccgagcaagcgtgaaggtctcat gcaaagcaagcggatacacatcttacatcacaacatgcactggatcaggcaggtccaggaca gggactggagtggatcggggacatctaccctggaaacggcgatactagctataatcagaagttc aaagggccggccaccctgacagctgacaagctactagtagcctgtatatggagctgagctccc tgcggtctgaagataccgcagtgactattgcgccagagtcggggggcatttccatggatta ttggggcgagggactctggtcactgtctctctccgtagcaccaggccatccgctctcccc ctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcagcagccgctgggctgctggtcaaggact actccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacacct cccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacctgacctccagc agcttggcagcaagacctacactgcaactgacatgacacagccagcaacccaaggtggaca agagagttgagtcctcaaatatggtccccatgcccacatgcccagcactgagttctctggggg accatcagctctctctgttcccccaaaaccaaggacactctcatgatctccggaccctgag gtcagctgctggtggtgacgtgagccaggaagccccaggtccagttcaactggtacgtgg atggcgtggaggtgcataatgccaaagcaaaagccggggaggagcagttcaacagcagctaccg tgtggtcagctcctcaccgtcctgcaccaggactggtgaacggcaagagatcaagtgaag gtctccaacaagcctcccgtcctccatcgagaaaaccatctccaagcaaaagggcagcccc gagagccacaggtgtacaccctgccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcct gacctgctggtcaaaggcttctacccagcagatcgccgtggagtgggagagcaatgggag ccggagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgaagcgtcctctctctctaca gcaggtaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtctctctctctctctctctaca tgaggctctgcacaaccactacacacagaagcctctccctgtctctctgggtaaa
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ

SEQ ID NO: 122	ДНК, тяжелая цепь	caggtcagctggtccagagcggagcagaggtcaaaaagcccggagcaagcgtgaaggtctcat gcaaagcaagcggatacacatcttacatcatacaacatgactgggtcaggcaggtccaggaca gggactggagtggatcggggacatctacctggaaacggcgatactagctataatcagaagttc aaagggccggccaccatgacagctgacaagtctactagtaccgtgatatggagctgagctccc tcgggtctgaagataccgagtgactattgcccagagtcggggggcatttcctatggatta ttggggcaggggactctggtcactgtctcctccgctagcaccaggccatccgtcttcccc ctggccctgctccaggagcacctccgagagcacagccctgggtgctgctggtcaggact actccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggccctgaccagcggcgtgcacacctt cccggtgtcctacagctcctcaggactctactcctcagcagcgtggtgacctgacctccagc agcttgggacagaaacctacacctgcaacgtagatcacagcccagcaacaccaaggtggaca agagagttgagtcgaaataggtccccatgcccaccatgcccagcactgagttcctgggggg accatcagcttctctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctccggaccctgag gtcagctgctggtggtggacgtgagccaggaagaccccagggtccagttcaactggtacgtgg atggcgtggagtgataatgccaagcaaaagccgaggaggagcagttcaacagcagctaccg tgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgaag gtctccaacaaggcctccgctcctccatcgagaaaacctctccaagccaaagggcagcccc gagagccacaggtgtacacctgccccatcccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcct gacctgctggtcaaaggcttctaccccagcagatcgccgtggagtgggagagcaatgggcag ccggagaacaactacaagaccagcctccggtgctggaactcagcggctccttcttctctaca gcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcagggagggaatgtcttctcatgctccgtgatgca tgaggtctgcacaaccactacacagaaagcctctcctgtctctgggtaa
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 40	VL	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 123	ДНК, VL	Gacatcgtctgacacagctcctgacagcctggcagtgagcctggcgaagggaaccatta attgtagagcttccgagtcgctgagtagtactatggcactagtctgatgacagtggtaccagcagaa gccagggcagccccctaaactgctgatctatgcagctagcaactggagtcggagtcaccagac cgggtctctggaagtggtcaggaaccgattttaccctgacaattagctcctgcaggcagaag acgtggccgtctactttgtcagcagagccgcaaggaccaagcacattcggagggggaccaa agtggaaatcaag
SEQ ID NO: 42	Легкая цепь	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 124	ДНК, легкая цепь	Gacatcgtcctgacacagtctcctgacagcctggcagtgagcctggcgaaagggcaaccatta attgtagagcttccgagtcgctgagtagtactatggcactagtctgatgagtggtaccagcagaa gccagggcagccccctaaactgctgatctatgcagctagcaactggagtcggagtcggagtcagac cggttctctggaagtgggtcaggaaccgattttaccctgacaattagctccctgcaggcagaaag acgtggccgctcacttttgcagcagagccgcaaggaccacaacattcggagggggaccaca agtggaaatcaagcggactgtgtgctgaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcag ttgaaatctggaactgcctctgttgtgctgctgaataacttctatcccagagagggcacaag tacagtggagggtgataaacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcagga cagcaaggacagcactacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaagcagactacgagaaa cacaagtctacgctcgaagtacccatcagggcctgagttcaccggtgacaagagcttca acaggggagagtggt
ABTIM3-hum09		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 52	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHVWRQAPGGLEWMGDIYPGNGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 53	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTTTCTT GTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTTCCGACAGGCCCCAGGGCA AGGCCTCGAGTGGATGGCGATATCTACCCCGGAACGGCGCACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGTCACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGGTCCC TGAGGTCTGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 54	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHVWRQAPGGLEWMGDIYPGNGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFAVLQSSGLYSLSVVTVPS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 55	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTTTCTT GTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTTGCCAGGCCCCAGGGCA AGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTACCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGTCACTATACCCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTCTGAGTTCCC TGAGGTCTGAGGACACCCGGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGGGAGCCCTCCCTATGAGACTA CTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTTCCCC CTGGCACCTTGTAGCCGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTT CCCCGTGTGTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGTGTGTCGTCGGTGGTACGGTGCCTTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGTGGACA AGCGCGTGAATCGAAGTACGGCCACCCTGCCCGCTTGTCCCGCGCGGAGTTCTCGGGCG TCCCTCGGCTTTCTGTTCCACCGAAGCCCAAGGACACTTGTATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTCTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCG CGTGTGTCGCTGCTGACGGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCAACAAGGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCAAGGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCTCTACT CGCGGTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTCAAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 57	ДНК, VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGAGACTACACTGA GCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGTCAAGCCCTAGACTGCTGATCTACGCCGCTTAACGTGGAATCAGGGATCCCCGCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTACCCTGACTATCTTAGCCTGGAACCCGAGG ATATCGCCGTCTACTTCTGTGACGAGTCTAGGAAGGACCCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 58	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSMLQWYQQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 59	ДНК, легкая цепь	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACACTGA GCTGTAGAGAGTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCCGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGGATCCCCGCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTACCCTGACTATCTTAGCCTGGAACCCGAGG ATATCGCCGTTACTTCTGTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCCGAGCGTGGTGTCCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGCCAAGG TGCAGTGGAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCCAGGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum10		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 60	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHVVRQMPGKLEWMDIYPNGDTSYNQKF KGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQTTTVVSS
SEQ ID NO: 61	ДНК, VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGCGAGTCACTGAAGATTAGCT GTAAAGGTTACAGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGTCCGCCAGATGCCGGGAA AGGCCTCGAGTGGATGGCGATATCTACCCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGGCAAGTCACAATTAGCGCCGATAAGTCTATTAGCACCGTCTACCTGCAGTGGTCTAGCC TGAAGGCTAGTGACACCGCTATGTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 62	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHVVRQMPGKLEWMDIYPNGDTSYNQKF KGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQTTTVVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 63	ДНК, тяжелая цепь	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGCGAGTCACTGAAGATTAGCT GTAAAGGTTTACAGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGTCCGCCAGATGCCCGGAA AGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTACCCCGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGGCAAGTCACAATTAGCGCCGATAAGTCTATTAGCACCGTCTACCTGCAGTGGTCTAGCC TGAAGGCTAGTGACACCGCTATGTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTTCCCC CTGGCACCTTGTAGCCGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTT CCCCGCTGTGTGCAGAGCTCCGGGCTGTACTCGCTGTCTCGTGGTGCAGGTGCCTTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACA AGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCACCGTGCCCGCTTGTCCCGCCGGAGTTCCCTCGGCGG TCCCTCGGCTTTCTGTCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTGTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCG CGTGTGTCCGTGTGACGGTGTGCATCAGGACTGGTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCAACAAGGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCAAGGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGGAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCTCTACT CGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTACAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSIMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSI
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 57	ДНК, VL	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCTGGCGAGAGACTACACTGA GCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGTCAAGCCCTAGACTGCTGATCTACGCCGCTTAACGTGGAATCAGGGATCCCCGCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTACCCTGACTATCTTAGCCTGGAACCCGAGG ATATCGCCGTCTACTTCTGTGACGAGTCTAGGAAGGACCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 58	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 59	ДНК, легкая цепь	GAGATCGTCCTGACTCAGTCACCCGCTACCCTGAGCCTGAGCCCTGGCGAGAGAGCTACACTGA GCTGTAGAGAGTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCCGTCAAGCCCCTAGACTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGGATCCCCGCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCCTGACTATCTCTAGCCTGGAACCCGAGG ATATCGCCGTTACTTCTGTGTCAGCAGTCTAGGAAGGACCCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCCGAGCGTGGTGTCCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGCCAAGG TGCAGTGGAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCCACGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum11		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 52	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHVWRQAPGGLEWMGDIYPNGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 53	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAGTTTCTT GTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTTCCGACAGGCCCCAGGGCA AGGCCTCGAGTGGATGGCGATATCTACCCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGTCACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGAAGTTT TGAGGTCTGAGGACACCGCCGCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCCTGTCTAGC
SEQ ID NO: 54	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHVWRQAPGGLEWMGDIYPNGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 55	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAACCCGGCTCTAGCGTGAAAGTTTCTT GTAAAGCTAGTGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTTTCGCCAGGCCCCAGGGCA AGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTACCCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGTAGAGTCACTATCACCGCCGATAAGTCTACTAGCACCGTCTATATGGAAGTGCAGTTCCC TGAGGTCTGAGGACACCGCGTCTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCTATGAGACTA CTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTCCCC CTGGCACCTTGTAGCCGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTT CCCCGTGTGTGCAGAGCTCCGGGTGTACTCGTGTGCTCGGTGGTACGGTGCCTTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACTTACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGGTGGACA AGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCACCGTGCCCGCTTGTCCCGCGCGGAGTTCCCTCGGCGG TCCCTCGGTCTTCTGTGCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTCTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCG CGTGTGTCCGTGTGACGGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAAA GTGTCCAACAAGGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAAGCAAGGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGGAAAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCCTTCTTCTTACT CGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTACAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 65	ДНК, VL	GCTATTGAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGCGATAGAGTACTATCA CCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGAAAGCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTCCCTCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGTTCACCTGACTATCTTAGCCTGCAGCCCGAGG ACTTCGCTACCTACTTCTGTGACGAGTCTAGGAAGGACCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 66	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 67	ДНК, легкая цепь	GCTATTTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCA CCTGTAGAGTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCCGGAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTGACTATCTTAGCCTGCAGCCCGAGG ACTTCGCTACCTACTTCTGTGAGCAGTCTAGGAAGGACCCCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGCCAAGG TGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCCAGGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCGACCCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum12		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTF TSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 60	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTF TSYNMHWVRQMPGKGLEWMDIYPGNGDTSYNQKF KGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPM DYWGQTTVTVSS
SEQ ID NO: 61	ДНК, VH	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGCGAGTCACTGAAGATTAGCT GTAAAGGTT CAGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGTCCGCCAGATGCCCGGAA AGGCCTCGAGTGGATGGCGATATCTACCCCGGGAACGGCGCACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGGCAAGTCACAATTAGCGCCGATAAGTCTATTAGCACCGTCTACCTGCAGTGGTCTAGCC TGAAGGCTAGTGACACCGCTATGTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGC
SEQ ID NO: 62	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTF TSYNMHWVRQMPGKGLEWMDIYPGNGDTSYNQKF KGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPM DYWGQTTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP E VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLG

SEQ ID NO: 63	ДНК, тяжелая цепь	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCACTGAAGATTAGCT GTAAAGGTTTCAGGCTACACCTTCACTAGCTATAATATGCACTGGGTCCGCCAGATGCCCGGGAA AGGCCTCGAGTGGATGGGCGATATCTACCCCGGGAACGGCGACACTAGTTATAATCAGAAGTTT AAGGGCAAGTCACAATTAGCGCCGATAAGTCTATTAGCACCGTCTACCTGCAGTGGTCTAGCC TGAAGGCTAGTGACACCGCTATGTACTACTGCGCTAGAGTGGGCGGAGCCTCCCTATGGACTA CTGGGGTCAAGGCACTACCGTGACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGCCCGTCCGTGTCCCC CTGGCACCTTGTAGCCGAGCACTAGCGAATCCACCGCTGCCCTCGGCTGCCTGGTCAAGGATT ACTTCCCGGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGAGTGCACACCTT CCCCGTGTGTGCAGAGCTCCGGGTGTACTCGTGTGTCGGTGGTACGGTGCCTTCATCT AGCCTGGGTACCAAGACCTACACTTGCAACGTGGACCACAAGCCTTCCAACACTAAGTGGACA AGCGCGTCGAATCGAAGTACGGCCACCCTGCCCGCTTGTCCCGCCGGAGTTCTCGGGGG TCCCTCGGTCTTCTGTGCCACCGAAGCCCAAGGACACTTTGATGATTTCCCGCACCCCTGAA GTGACATGCGTGGTCTGGACGTGTACAGGAAGATCCGGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGG ATGGCGTCGAGGTGCACAACGCCAAAACCAAGCCGAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACTTACCG CGTGTGTCCGTGTGACGGTGTGCATCAGGACTGGCTGAACGGGAAGGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCAACAAGGGACTTCTAGCTCAATCGAAAAGACCATCTCGAAAGCAAGGGACAGCCCC GGGAACCCCAAGTGTATACCCCTGCCACCGAGCCAGGAAGAAATGACTAAGAACCAAGTCTCATT GACTTGCCTTGTGAAGGGCTTCTACCCATCGGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAG CCGGAAAACAACACTACAAGACCACCCCTCCGGTGTGGACTCAGACGGATCTTCTTCTCTACT CGCGGCTGACCGTGGATAAGAGCAGATGGCAGGAGGAAATGTGTTACAGTGTCTGTGATGCA TGAAGCCCTGCACAACCACTACACTCAGAAGTCCCTGTCCCTCTCCCTGGGA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 65	ДНК, VL	GCTATTGAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGCGATAGAGTACTATCA CCTGTAGAGCTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGACAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGGAAGCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTCCCTCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCAGCTTACCCCTGACTATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGG ACTTCGCTACCTACTTCTGTGACGAGTCTAGGAAGGACCTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAG
SEQ ID NO: 66	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRVAAPSVFI FPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 67	ДНК, легкая цепь	GCTATTTCAGCTGACTCAGTCACCTAGTAGCCTGAGCGCTAGTGTGGGCGATAGAGTGACTATCA CCTGTAGAGTAGTGAATCAGTCGAGTACTACGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCCGGAAAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCTCTAACGTGGAATCAGGCGTGCCCTCT AGGTTTAGCGGTAGCGGTAGTGGCACCGACTTCACCTGACTATCTTAGCCTGCAGCCCGAGG ACTTCGCTACCTACTTCTGTGAGCAGTCTAGGAAGGACCTTAGCACCTTCGGCGGAGGCACTAA GGTCGAGATTAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCGCCAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGCCAAGG TGCAAGTGGAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCCAGGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum13		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTF TSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 68	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTF TSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGSGDTSYNQKF KGRVTTITADKSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARVGGAFPM DYWGQGT TTVTVSS
SEQ ID NO: 69	ДНК, VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCGTC AAGGTGTCCT GCAAAGCATCTGGCTACACCTTACCAGCTACAATATGCACTGGTCCGACAAGCCCTGGGCA GGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTACCCCGCAGTGGTGACACTTCTATAACCAGAAGTTC AAGGGCCGAGTCACTATTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAAC TCTTCTC TGAGATCCGAGGACACTGCCGCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTCCCAATGGACTA TTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 70	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTF TSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGSGDTSYNQKF KGRVTTITADKSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARVGGAFPM DYWGQGT TTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNV DHPKSN TKVDRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 71	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAATTGGTTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCGTCAAGGTGTCCT GCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCACTGGGTCCGACAAGCCCTGGGCA GGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTACCCCGCAGTGGTGACACTTCCTATAACCAGAAGTTC AAGGGCCGAGTCACTATTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAAGTCTCTTCTC TGAGATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTCCCAATGGACTA TTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCTACAAGGGCCCTCCGTCTTTCCA CTCGCGCGTCTCGCTCCACCTCAGAGTCAACTGCCGCTCTGGGTTGCCTGGTCAAGGACT ACTTCCAGAGCCGGTGACAGTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTCATACCTT CCCCGAGTCTCCAGTCTCAGGCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCTCCAGC TCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCTAATACCAAGGTGGATA AAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCCTGCCCGCTTGGCCAGTCCGGAGTTCCTGGGCGG ACCATCCGTTTTCTGTTCACCCAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAA GTGACTTGCCTTGTGGTGGACGTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTCAATCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTAATCAACATATAG GGTTGTGTCTGTGCTGACGGTCTGCATCAGGACTGGTGAACGGAAAGGAATACAAGTGAAG GTGTCCAACAAAGGACTGCCAAGCTCTATCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTA GAGAGCCCCAAGTTTACACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTT GACATGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAAATGGCCAG CCTGAGAACAACATAAGACTACTCTCCCGTGTGGACTCCGACGGGAGCTTTTTCTGTATT CCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAAGAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCA CGAGGCTCTCCATAACCATTATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSIMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSI
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSIMQWYQKPKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 125	ДНК, VL	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCCTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGAACAATCA CCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGACAGTGGTATCAGCAAAA GCCAGGAAAGCCCAAGCTGCTGATATATGCCGCGAGTAACGTCGAGTCAAGGGTCCCATCA AGATTCFCCGGTTCGGGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTTCCCTTCAGCCAGAGG ACTTCGCTACGTACTTTTCCAGCAGTCACGGAAGATCCCTCTACTTTCGGAGGTGGGACAAA AGTCGAAATTA
SEQ ID NO: 66	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSIMQWYQKPKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRRTVAAPSVFI FPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSLSTLTLKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 126	ДНК, легкая цепь	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCCTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGACAATCA CCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAA GCCAGGGAAGCCCCAAGCTGCTGATATATGCCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCA AGATTCTCCGGTCCGGGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTCCCTTCAGCCAGAGG ACTTCGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAGATCCCTCTACTTTCGGAGGTGGGACAAA AGTCGAAATTAACGTACGGTGGCAGCTCCGCTGTGTTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACGCATCCGTGGTTTTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAGGGAGGCTAAGG TCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTACAGAGCAGGA CTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGAGAAG CACAAAGTTTACGCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCTCCCAAGTTACCAAACTTTTCA ACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum14		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 72	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHVVRQAPGQGLEWMGDIYPGQGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVIVSS
SEQ ID NO: 73	ДНК, VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCGTC AAGGTGTCCT GCAAAGCATCTGGCTACACCTTACCAGCTACAATATGCACTGGGTCGACAAGCCCTGGGCA GGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTACCCCGCCAGGGTGCACTTCCTATAACCAGAAGTTC AAGGGCCGAGTCACTATTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTTCTC TGAGATCCGAGGACACTGCCGCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTCCCAATGGACTA TTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 74	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHVVRQAPGQGLEWMGDIYPGQGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVIVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTTFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 75	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCGTCAAGGTGTCTT GCAAAGCATCTGGGTACACCTTCACCAGCTACAATATGCACTGGGTCCGACAAGCCCTGGGCA GGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTACCCCGGCCAGGGTGACACTTCCTATAACCAGAAGTTC AAGGGCCGAGTCACTATTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAAGTCTCTTCTC TGAGATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTTCCCAATGGACTA TTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCTACAAGGGCCCTCCGTCTTTCCA CTCGGCGCTGCTCTCGCTCCACCTCAGAGTCAACTGCCGCTCTGGGTGCTTGGTCAAGGACT ACTTCCAGAGCCGGTGACAGTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTCATACCTT CCCCGAGTCTCCAGTCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCTCCAGC TCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCTAATACCAAGTGGATA AAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCTGCCCGCTTGGCCAGTCCGGAGTTCCTGGGCGG ACCATCCGTTTTCTTGTTCACCCAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAA GTGACTTGCCTTGTGGTGGACGTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTCAATCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTAATCAACATATAG GGTTGTGTCTGTGCTGACGGTCTGCATCAGGACTGGTGAACGGAAAGGAATACAAGTGAAG GTGTCCAACAAGGACTGCCAAGCTCTATCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTA GAGAGCCCCAAGTTTACACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTT GACATGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAAATGGCCAG CCTGAGAACAACATAAGACTACTCTCCCGTGTGGACTCCGACGGGAGCTTTTTCTGTATT CCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAAGAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCA CGAGGCTCTCCATAACCATTATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFLTISSLPEDFATYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 125	ДНК, VL	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCCTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGACAATCA CCTGTAGAGCATCCGAGTCAAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGAGTGGTATCAGCAAAA GCCAGGGAAGCCCAAGCTGCTGATATATGCCGAGTAACGTGAGTCAAGGGTCCCATCA AGATTCCTCCGGTCCGGGTCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTCCCTCAGCCAGAGG ACTTCGCTACGTACTTTTCCAGCAGTACGGAAGATCCCTCTACTTTCGGAGGTGGGACAAA AGTCGAAATAAA
SEQ ID NO: 66	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFLTISSLPEDFATYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSLSTLTLKADYЕК HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 126	ДНК, легкая цепь	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGACAATCA CCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAA GCCAGGGAAGCCCCAAGCTGCTGATATATGCCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCA AGATTCTCCGGTCCGGGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTCCCTTCAGCCAGAGG ACTTCGCTACGTACTTTTGCAGCAGTCACGGAAGATCCCTCTACTTTCGGAGGTGGGACAAA AGTCGAAATTAACGTACGGTGGCAGCTCCGCTGTGTTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACGCATCCGTGGTTTTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAGGAGGCTAAGG TCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGA CTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGAGAAG CACAAGTTTTACGCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCTCCCGAGTTACCAAACTTTCA ACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum15		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 76	VH	EVQLVQSGAEVVKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHVVRQMPGKGLEWMDIYPGSGDTSYNQKF KGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQTTTVVSS
SEQ ID NO: 77	ДНК, VH	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTTTAAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAA GGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGAGTGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGACAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTCGCTCGGGTAGGTGGCGGTTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 78	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVVKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHVVRQMPGKGLEWMDIYPGSGDTSYNQKF KGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQTTTVVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDITLMSRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 79	ДНК, тяжелая цепь	GAAGTTC AATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTTTGAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGC AA GGCCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGCAGTGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGACAGCAAATCCATATCTACGTCTACCTCCAGTGGTCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGGCGGTTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCCTCTACAAGGGCCCTCCGCTTTTCCA CTCGCGCGTCTCGCTCCACCTCAGAGTCAACTGCCGCTCTGGGTGCTGGTCAAGGACT ACTTCCAGAGCCGGTGACAGTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTCATACCTT CCCCGAGTCTCCAGTCTCAGGCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCTCCAGC TCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCTAATACCAAGTGGATA AAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCCTGCCCGCTTGCCAGCTCCGGAGTCTCCGGGCGG ACCATCCGTTTTCTGTTCACCCAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAA GTGACTTGCCTTGTGGTGGACGTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTCAATCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAAACCAAGGGAGGAACAGTTTAATCAACATATAG GGTTGTGTCTGTGCTGACGGTTCTGCATCAGGACTGGTGAACGGAAAGGAATACAAGTGAAG GTGTCCAACAAGGACTGCCAAGCTCTATCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTA GAGAGCCCCAAGTTACACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTT GACATGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAAATGGCCAG CCTGAGAACAACATAAGACTACTCCTCCCGTCTGGACTCCGACGGGAGCTTTTTCTGTATT CCAGGCTTACAGTTCGATAAGAGCAGATGGCAAGAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCA CGAGGCTCTCCATAACCATTATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSIMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSI
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 127	ДНК, VL	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTGTCACCAGGAGAGCGGCCACCCTGA GCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATCCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA ACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATCTACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCAGCC AGATTTTCTGGGTGAGTCTGGAAGTACTTTACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGG ACATTGCTGTGATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGTGGAACCAA GGTAGAGATAAAG
SEQ ID NO: 58	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSIMQWYQQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 128	ДНК, легкая цепь	GAGATTGTTCTTACGCCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTACCAGGAGAGCGGCCACCCTGA GCTGCAGAGAGTTTACAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATCCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA ACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATCTACGCAGCCAGCAACGTCCAGTCCGGCATCCAGCC AGATTTTCTGGGTGAGGATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGG ACATTGCTGTGATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGTGGAACCAA GGTAGAGATAAAGCGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACGCATCCGTGGTTTTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAGGAGGCTAAGG TCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTACAGAGCAGGA CTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGTCTCCAGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGAGAAG CACAAGTTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCTCCCGAGTTACCAAACTTTTCA ACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum16		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 80	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHVVRQMPGKGLEWMDIYPGQGDTSYNQKF KGQVTISADKSIISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQTTTVTVSS
SEQ ID NO: 81	ДНК, VH	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTTTAAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAA GGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGCCAGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 82	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHVVRQMPGKGLEWMDIYPGQGDTSYNQKF KGQVTISADKSIISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQTTTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 83	ДНК, тяжелая цепь	GAAGTTC AATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTTTGAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCC TACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAA GGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGCCAGGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGAGACAAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCCAC TTAAAGCCTCCGACACCCGCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGGTTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCCTCTACAAAGGGCCCTCCGCTTTTCCA CTCGCGCGTGTCTCGCTCCACCTCAGAGTCAACTGCCGCTCTGGTTCGCTGGTCAAGGACT ACTTCCCAGAGCCGGTGACAGTGAAGTGGAAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTCATACCTT CCCCGAGTCTCCAGTCTCAGGCCTGTATCCCTGAGCAGCGTGTGCACAGTGCCTCCAGC TCTCTTGGCAGCAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGCTCTAATACCAAGGTGGATA AAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCCTGCCCGCTTGGCCAGCTCCGGAGTTCCTGGGCGG ACCATCCGTTTTCTTGTTCACCCAAACCTAAAGACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAA GTGACTTGCCTTGTGGTGGACGCTCCAGGAGGACCAGAAGTCAATTCAACTGGTACGTGG ACGGGTGGAGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTAATTCACATATAG GGTTGTCTGTGCTGACGGTCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAATACAAGTCAAG GTGTCCAACAAGGACTGCCAAGCTCTATCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGACAACCTA GAGAGCCCCAAGTTTACACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTT GACATGCCTGGTGAAGGGCTTACCTTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAAATGGCCAG CCTGAGAACAATAAGACTACTCTCCCGTGTGGACTCCGACGGGAGCTTTTTCTGTATT CCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAAGAGGGGAATGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCA CGAGGCTCTCCATAACCATTATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTS LMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTS L
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTS LMQWYQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFGSGSGTDFTLTITSSLEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 127	ДНК, VL	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTCAACAGGAGAGCGCCACCCTGA GCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATCCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA ACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGTGATCTACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCC AGATTTTCTGGGTGAGGATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGG ACATTGCTGTGATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGACCCAGTACCTTTGGAGGTGGAACCAA GGTAGAGATAAAG
SEQ ID NO: 58	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTS LMQWYQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFGSGSGTDFTLTITSSLEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 128	ДНК, легкая цепь	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTACCAGGAGAGCGGCCACCCTGA GCTGCAGAGAGTTTACAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATCCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA ACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATCTACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATCCAGCC AGATTTTCTGGGTGAGGATCTGGAAGTACTTTTACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGG ACATTGCTGTGATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGTGGAACCAA GGTAGAGATAAAGCGTACGGTGGCAGCTCCGCTGTGTTTTTATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACGCATCCGTGGTTTTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAGGAGGCTAAGG TCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTACAGAGCAGGA CTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGAGAAG CACAAGTTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCTCCCGAGTTACCAAACTTTTCA ACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum17		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 68	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGSGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 69	ДНК, VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCGTCAAGGTGCTCT GCAAAGCATCTGGCTACACCTTACCAGCTACAATATGCACTGGTCCGACAAGCCCTGGGCA GGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTACCCCGGAGTGGTGCACTTCTATAACCAGAAGTTC AAGGGCCGAGTCACTATTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACCTCTTCTC TGAGATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTCCCAATGGACTA TTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 70	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGSGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTTTPAVLQSSGLYSLSVVTVPS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGLK

SEQ ID NO: 71	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCGTCAAGGTGTCTT GCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCACTGGGTCCGACAAGCCCTGGGCA GGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTACCCCGGCAGTGGTGACACTTCCTATAACCAGAAGTTC AAGGGCCGAGTCACTATTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAAGTCTCTTCTC TGAGATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTCCCAATGGACTA TTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCAGCCTCTACAAGGGCCCTCCGTCTTTCCA CTCGCGCGTCTCGCTCCACCTCAGAGTCAACTGCCGCTCTGGGTGCTTGGTCAAGGACT ACTTCCAGAGCCGGTGACAGTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTCATACCTT CCCCGAGTCTCCAGTCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCTCCAGC TCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCTAATACCAAGTGGATA AAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCTGCCCGCTTGGCCAGTCCGGAGTTCCTGGGCGG ACCATCCGTTTTCTTGTTCACCCAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAA GTGACTTGCCTTGTGGTGGACGTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTCAATCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTAATCAACATATAG GGTTGTGTCTGTGCTGACGGTCTGCATCAGGACTGGTGAACGGAAAGGAATACAAGTGAAG GTGTCCAACAAGGACTGCCAAGCTCTATCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTA GAGAGCCCCAAGTTTACACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTT GACATGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAAATGGCCAG CCTGAGAACAACATAAGACTACTCTCCCGTGTGGACTCCGACGGGAGCTTTTTCTGTATT CCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAAGAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCA CGAGGCTCTCCATAACCATTATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 127	ДНК, VL	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTGTGTCACCAGGAGAGCGGCCACCCTGA GCTGCAGAGCTTACAGAGTGTGGAATACTACGGCACATCCCTGATGACAGTGGTATCAGCAGAA ACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATCTACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCAGCC AGATTTCTGGGTGAGGATCTGGAAGTACTTTACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGG ACATTGCTGTGATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGTGGAACCAA GGTAGAGATAAAG
SEQ ID NO: 58	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYAPREKRVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTITLTKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 128	ДНК, легкая цепь	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTACCAGGAGAGCGGCCACCCTGA GCTGCAGAGAGTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATCCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA ACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATCTACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATCCAGCC AGATTTTCTGGGTGAGGATCTGGAAGTACTTTTACACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGG ACATTGCTGTGATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGTGGAACCAA GGTAGAGATAAAGCGTACGGTGGCAGCTCCGCTGTGTTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACGCATCCGTGGTTTTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAGGAGGCTAAGG TCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTACAGAGCAGGA CTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGAGAAG CACAAGTTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCTCCCGAGTTACCAAACTTTTCA ACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum18		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 72	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGQGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 73	ДНК, VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCGTC AAGGTGTCCT GCAAAGCATCTGGCTACACCTTACCAGCTACAATATGCACTGGTCCGACAAGCCCTGGGCA GGGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTACCCCGCCAGGGTGCACTTCCTATAACCAGAAGTTC AAGGGCCGAGTCACTATTACCGCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAACTCTCTTCTC TGAGATCCGAGGACACTGCCGCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTCCCAATGGACTA TTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 74	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYNMHWVRQAPGQGLEWMGDIYPGQGDTSYNQKF KGRVTITADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTTFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGK

SEQ ID NO: 75	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAATTGGTTCAGTCAGGAGCAGAAGTTAAGAAGCCAGGATCATCCGTCAAGGTGTCTT GCAAAGCATCTGGCTACACCTTCACCAGCTACAATATGCACTGGGTCCGACAAGCCCTGGGCA GGCTTGGAGTGGATGGGAGACATTTACCCCGGCCAGGGTGACACTTCTATAACCAGAAGTTC AAGGGCCGAGTCACTATTACCCTGACAAGTCCACCTCCACAGTCTACATGGAAGTCTCTTTCTC TGAGATCCGAGGACACTGCCGTCTATTACTGCGCTCGCGTGGGCGGTGCTTCCCAATGGAGTA TTGGGGACAGGGCACAACCGTGACCGTCAAGTCCAGCTCAGCCTTACAAGGGCCCTCCGTCTTCCA CTCGCGCCGTCTCGTCCACCTCAGAGTCAACTGCCGTCTGGGTGCTGCTGGTCAAGGACT ACTTCCAGAGCCGGTGACAGTGAAGTGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTCATACCTT CCCCGAGTCTCCAGTCTCAGGCTGTATTCCCTGAGCAGCGTGTGCACAGTCCCTCCAGC TCTCTTGGCACGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCTAATAACCAAGGTGGATA AAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCTGCCCGCTTGGCCAGTCCGGAGTTCCTGGGCGG ACCATCCGTTTTCTTGTTCACCCAAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCGAAACCCCTGAA GTGACTTGCCTTGTGGTGGACGTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTGAATTCACCTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTAATTCACATATAG GGTGTGTCTGTGCTGACGGTCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAATACAAGTGAAG GTGTCCAACAAGGACTGCCAAGCTCTATCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTA GAGAGCCCCAAGTTACACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTT GACATGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAAATGGCCAG CCTGAGAACAACATAAGACTACTCTCCCGTGTGGACTCCGACGGGAGCTTTTTCTGTATT CCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAAGAGGGGAATGTGTTTTCTGCTCCGTGATGCA CGAGGCTCTCCATAACCATTATACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTGCTGCTGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 56	VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSLMQWYQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 127	ДНК, VL	GAGATTGTTCTTACGCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTACCAGGAGAGCGGCCACCCTGA GCTGCAGAGCTTCAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATCCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA ACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATCTACGCAGCCAGCAACGTCGAGTCCGGCATTCCAGCC AGATTTTCTGGGTGAGGATCTGGAAGTACTTACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGG ACATTGCTGTGATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGTGGAACCAA GGTAGAGATAAAG
SEQ ID NO: 58	Легкая цепь	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVEYYGTSLMQWYQKPGQAPRLLIYAASNVESGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDIAVYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSITLTSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 128	ДНК, легкая цепь	GAGATTGTTCTTACGCCAAAGTCCCGCCACACTTAGTTTGTACCAGGAGAGCGGCCACCCTGA GCTGCAGAGAGTTTACAGAGAGTGTGGAATACTACGGCACATCCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA ACCAGGACAGGCTCCTCGGCTGCTGATCTACGCAGCCAGCAACGTCCAGTCCGGCATCCAGCC AGATTTTCTGGGTGAGGATCTGGAAGTACTTTTACTGACAATCTCCAGCCTGGAACCCGAGG ACATTGCTGTGATTTTTGTCAACAGTCCCGGAAGGACCCAGTACCTTTGGAGGTGGAACCAA GGTAGAGATAAAGCGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACGCATCCGTGGTTTTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAGGAGGCTAAGG TCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTACAGAGCAGGA CTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGAGAAG CACAAAGTTTACGCCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCTCCCGAGTTACCAAACTTTTCA ACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum19		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	HCDR2	DIYPGSGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 25 (Chothia)	HCDR2	YPGSGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 76	VH	EVQLVQSGAEVVKPAGESLKISCKGSGYTFTSYNMHVVRQMPGKLEWMDIYPGSGDTSYNQKF KGQVTISADKSIISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQTTTVVSS
SEQ ID NO: 77	ДНК, VH	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTTTAAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAA GGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGAGTGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGCAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 78	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVVKPAGESLKISCKGSGYTFTSYNMHVVRQMPGKLEWMDIYPGSGDTSYNQKF KGQVTISADKSIISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQTTTVVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDITLMSRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 79	ДНК, тяжелая цепь	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTTGAAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCCACAAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGC GGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGCAGTGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGACAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGGCTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCCTCTACAAGGGCCCTCCGCTTTTCCA CTCGCGCGTCTCGTCCACCTCAGAGTCAACTGCCGCTCTGGGTTGCTGGTCAAGGACT ACTTCCAGAGCCGGTGACAGTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTCATACCTT CCCCGAGTCTCCAGTCTCAGGCCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCTCCAGC TCTCTTGGCAGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGCTAATAACCAAGTGGATA AAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCCTGCCCGCTTGGCCAGTCCGGAGTTCTGGGGCG ACCATCCGTTTTCTGTTCACCCAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCGAAACCCTGAA GTGACTTGGCTTGTGGTGGACGCTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTGAATCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTAATTAACATATAG GGTTGTGTCTGTGCTGACGGTCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAATACAAGTGAAG GTGTCCAACAAGGACTGCCAAGCTCTATCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTA GAGAGCCCCAAGTTACACCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTT GACATGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAAATGGCCAG CCTGAGAACAACATAAGACTACTCTCCCGTGGACTCCGACGGGAGCTTTTTCTGTATT CCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAAGAGGGGAATGTGTTTTCTGTCCGTGATGCA CGAGGCTCTCCATAACCATTTACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QSRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFLLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 125	ДНК, VL	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCCTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGACAATCA CCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGACAGTGGTATCAGCAAAA GCCAGGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATATATGCCGCGAGTAACGTGAGTCAAGGGTCCCATCA AGATTCCTCCGGTCCGGGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTCCCTCAGCCAGAGG ACTTCGCTACGTACTTTTCCAGCAGTCACGGAAGATCCCTCTACTTTCGGAGGTGGGACAAA AGTCGAAATTA
SEQ ID NO: 66	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFLLTISLQPEDFATYFCQQSRKDPSTFGGGTKVEIKRRTVAAPSVFI FPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 126	ДНК, легкая цепь	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGACAATCA CCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAA GCCAGGGAAGCCCCAAGCTGCTGATATATGCCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCA AGATTCTCCGGTCCGGGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTCCCTTCAGCCAGAGG ACTTCGCTACGTACTTTTGGCAGCAGTCACGGAAGATCCCTCTACTTTCGGAGGTGGGACAAA AGTCGAAATTAACGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACGCATCCGTGGTTTTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAGGGAGGCTAAGG TCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTACAGAGCAGGA CTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGAGAAG CACAAGTTTTACGCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCTCCCGAGTTACCAAACTTTTCA ACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum20		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 80	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMDIYPGQGDTSYNQKF KGQVTISADKSIISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQGTITVIVSS
SEQ ID NO: 81	ДНК, VH	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTTTAAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAA GGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGCCAGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGACAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTCGCTCGGGTAGGTGGCGCGTTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 82	Тяжелая цепь	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYTFTSYNMHWVRQMPGKGLEWMDIYPGQGDTSYNQKF KGQVTISADKSIISTVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPMDYWGQGTITVIVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDITLMSRTP VTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSLGK

SEQ ID NO: 83	ДНК, тяжелая цепь	GAAGTTCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAAACCAGGAGAGAGTTTGAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGC GGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGCCAGGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGACAGCAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCCCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGCGCTCGGGTAGGTGGCGGCTTCCAAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCCTCTACAAGGGCCCTCCGTCTTTCCA CTCGCGCGTCTCGCTCCACCTCAGAGTCAACTGCCGCTCTGGGTTGCTGGTCAAGGACT ACTTCCAGAGCCGGTGACAGTGAGCTGGAACAGTGGGGCCCTGACATCCGGCGTTCATACCTT CCCCGAGTCTCCAGTCTCAGGCTGTATTCCCTGAGCAGCGTTGTACAGTGCCTCCAGC TCTCTTGGCAGAAAACCTACACATGCAACGTTGATCATAAGCCGTCTAATACCAAGTGGATA AAAGAGTGGAGAGCAAGTACGGCCACCCTGCCCGCTTCCCAGCTCCGGAGTTCCTGGGCGG ACCATCCGTTTTCTTGTTCACCCAAACCTAAAGACACTCTGATGATTTCCCGAACCCCTGAA GTGACTTGCCTTGTGGTGGACGCTCTCCAGGAGGACCCAGAAGTCAATCAACTGGTACGTGG ACGGGGTGGAGGTGCACAATGCAAAAACCAACCAAGGGAGGAACAGTTTAATCAACATATAG GGTTGTGTCTGTGCTGACGGTCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAATACAAGTGAAG GTGTCCAACAAAGGACTGCCAAGCTCTATCGAGAAAACAATCTCTAAGGCCAAGGGACAACCTA GAGAGCCCCAAGTTTACACCCTGCCACCATCACAGGAAGAGATGACCAAAAATCAGGTGAGCTT GACATGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGATATTGCGGTTGAGTGGGAGTCAAATGGCCAG CCTGAGAACAACATAAGACTACTCTCCCGTGGACTCCGACGGGAGCTTTTCTGTATT CCAGGCTTACAGTCGATAAGAGCAGATGGCAAGAGGGGAATGTGTTTTCTGTCTCCGTGATGCA CGAGGCTCTCCATAACCATTTACTCAGAAAAGTCTCTCTGTCTACTGGGCAAA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 64	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQKPKAPKLLIYAASNVEGVP RFSGSGSGTDFLLTISLQPEDFATYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 125	ДНК, VL	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCCTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGA CAATCACTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGAGTGGTATCAGCA AAAGCCAGGAAAGCCCCAAAGCTGCTGATATATGCCGCGAGTAACGTCAGTCAAGGGTGC CATCAAGATTCCTCCGTTCCGGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTTCCCTCAGCCAG AGGACTTCGCTACGTACTTTTCCAGCAGTCACGGAAGATCCCTCTACTTTCGGAGGTGGG ACAAAAGTCGAAATTA
SEQ ID NO: 66	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSLMQWYQKPKAPKLLIYAASNVEGVP RFSGSGSGTDFLLTISLQPEDFATYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 126	ДНК, легкая цепь	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCTTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGACAATCA CCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAAAA GCCAGGGAAGCCCCAAGCTGCTGATATATGCCGAGTAACGTCGAGTCAGGGGTGCCATCA AGATTCTCCGGTCCGGGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCATCTCTCCCTTCAGCCAGAGG ACTTCGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAGATCCCTTACTTTCCGAGGTGGGACAAA AGTCGAAATTAACGTACGGTGGCAGCTCCGTCTGTTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACGCATCCGTGGTTTTGTCTGCTGAACAATTTTTACCCAGGGAGGCTAAGG TCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTTCAGTCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAGCAGGA CTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGTCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTATGAGAAG CACAAGTTTTACGCTGTGAGGTAACGCACCAAGGACTCTCTCCCGAGTTACCAAACTTTTCA ACAGAGGAGAATGT
ABTIM3-hum21		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTF TSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 84	VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKV SCKASGYTF TSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIYPGQGDTSYNQKF KGRATMTADKSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARVGGAFPM DYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 85	ДНК, VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGAGCAAGCGTGAAGGTCTCAT GCAAAGCAAGCGGATACACATTTACATCATAACAACATGCACTGGGTGAGCAGGCTCCAGGACA GGGACTGGAGTGGATCGGGGACATCTACCCTGGACAGGGCGATACTAGCTATAATCAGAAGTTC AAAGCCCGGGCCACCATGACAGCTGACAAGCTACTAGTACCGTGTATATGGAAGTGAAGTCCC TGCGGTCTGAAGATACCGCAGTGTACTATTCGCCAGAGTCGGGGGGGCATTTCTATGGATTA TTGGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTGCTCAGCTCA
SEQ ID NO: 86	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVVKPGASVKV SCKASGYTF TSYNMHWVRQAPGQGLEWIGDIYPGQGDTSYNQKF KGRATMTADKSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARVGGAFPM DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFFAVLQSSGLYSLSVVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALAAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 87	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAATGGTGCAGAGCGGAGCAGAGGTCAAAAAGCCCGGAGCAAGCGTGAAGGTCTCAT GCAAAGCAAGCGGATACACATTTACATCATAACAACATGCACTGGGTGAGGAGGCTCCAGGACA GGACTGGAGTGGATCGGGGACATCTACCTGGACAGGGCGATACTAGCTATAATCAGAAGTTC AAAGGCCGGGCCACCATGACAGCTGACAAGTCTACTAGTACCGTGTATATGGAAGTGCAGCTCCC TGCGGTCTGAAGATACCGCAGTGTACTATTGCGCCAGAGTCGGGGGGCATTTCCTATGGATTA TTGGGGCAGGGGACTCTGGTCACTGTGCTCAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCC CTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGCGGCACAGCCGCCCTGGGTGCCTGGTGAAGGACT ACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTT CCCCCGCGTGTGCAGAGCAGCGCCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGCAGTGCAGCAGCAGC AGCCTGGGCACCCAGACTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCAGCAACACCAAGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCACACCTGCCCCCCCTGCCAGCCCCAGAGCT GCTGGGGCGGACCTCCGTGTTCCGTGTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCAGCAGG ACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGCCGTGAGCCACGAGGACCAGAGGTGAAGTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAGCAGTACAACAG CACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGTGAACGGCAAGGAATAC AAGTGAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGGCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGG GCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCCTCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCAGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTACAGTGCAG CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 88	VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFLLTISSLQAEDVAVYYCQQRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 89	ДНК, VL	GACATCGTCTGACACAGTCTCCTGACAGCCTGGCAGTGAAGCCTGGGCGAAAGGGCAACCATTA ATTGTAGAGCTCCGAGTCCGTCGAGTACTATGGCACTAGTCTGATGACAGTGGTACCAGCAGAA GCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCTGATCTATGCAGCTAGCAACGTGGAGTCCGGAGTCCCAGAC CGGTTCTCTGGAAGTGGGTGAGGAACCGATTTTACCCTGACAATTAGCTCCCTGCAGGCAGAAG ACGTGGCCGTCTACTATGTGTCAGCAGAGCCGCAAGGACCAAGCACATTCGGAGGGGGACCAA AGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 90	Легкая цепь	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVEYYGTSLMQWYQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPD RFSGSGSGTDFLLTISSLQAEDVAVYYCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 91	ДНК, легкая цепь	GACATCGTCCTGACACAGTCTCCTGACAGCCTGGCAGTGAGCCTGGGCGAAAGGGCAACCATTA ATTGTAGAGAGTCCGAGTCCGTCGAGTACTATGGCACTAGTCTGATGCAGTGGTACCAGCAGAA GCCAGGGCAGCCCCCTAAACTGCTGATCTATGCAGCTAGCAACGTGGAGTCCGGAGTCCCAGAC CGGTTCTCTGGAAGTGGGTGAGGAACCGATTTTACCTGACAATTAGCTCCCTGCAGGCAGAAG ACGTGGCCGTCTACTATGTGTCAGCAGAGCCGCAAGGACCCAAAGCACATTCCGAGGGGGACCAA AGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCCGAGCGTGGTGTGCTGCTGAACAATCTTACCCCGGAGGCCAAGG TGCAAGTGGAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCCAGGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCGACCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCGTACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum22		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 30 (Kabat)	HCDR2	DIYPGQGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTFTSY
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	HCDR2	YPGQGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPMDY
SEQ ID NO: 92	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHVVRQAPGQGLEWMGDIYPGQGDTSYNQKF KGRVTMTRDTSSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSS
SEQ ID NO: 93	ДНК, VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCT GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCTACAACATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCTGGACA GGGACTGGAATGGATGGGCGACATCTACCCCGCCAGGGCGACACCTCCTACAACCAGAAATTC AAGGGCAGAGTGACCATGACCCGGGACACCAGCACCTCCACCGTGTACATGGAAGTGAAGCAGCC TGCGGAGCGAGGACACCCCGTGTACTACTGTGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCCATGGACTA TTGGGGCCAGGGCACCCCGTGACCGTGAGCTCA
SEQ ID NO: 94	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYNMHVVRQAPGQGLEWMGDIYPGQGDTSYNQKF KGRVTMTRDTSSTVYMEISSLRSEDVAVYYCARVGGAFPMDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALAAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 95	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTCT GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCTACAACATGCACTGGGTGCGCCAGGCCCCCTGGACA GGGACTGGAATGGATGGGCGACATCTACCCCGGCCAGGGCGACACCTCCTACAACCAGAAATTC AAGGGCAGAGTGACCATGACCCGGGACACCAGCACCTCCACCGTGTACATGGAAGTGTAGCAGCC TGCGGAGCGAGGACACCGCGGTGTACTACTGTGCTAGAGTGGGCGGAGCCTTCCCCATGGACTA TTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCTCAGCTAGCACCAGGGCCCCAGCGTGTCCCC CTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGCGGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACT ACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACCTT CCCCCGCGTGTGCAGAGCAGCGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTCCCAGCAGC AGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCACACCTGCCCCCCCTGCCAGCCCCAGAGCT GCTGGGCGGACCTCCGTGTTCCTGTTCCTCCCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCAGCAGG ACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGCCGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTCAACT GGTACGTGGACGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAGCAGTACAACAG CACCTACAGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGTGAACGGCAAGGAATAC AAGTGAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGGCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGG GCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCCTCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAATAACAAGACCACCCCGAGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTACAGTGCAG CGTGATGCACAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSLMQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 96	VL	AIRLTQSPSSFSASTGDRVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQKPKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQQRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 97	ДНК, VL	GCCATCAGACTGACCCAGAGCCCCAGCTCCTTTAGCGCCAGCACCGGCGACAGAGTGACCATCA CCTGTAGAGCCAGCGAGCGTGAATATTACGGCACCAGCCTGATGACAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCGCAGCAATGTGAAAGCGGCGTCCCCAGC AGATTCAGCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACAATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCCGAAGACCCAGCACATTTGGCGGAGCACCAA GGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 98	Легкая цепь	AIRLTQSPSSFSASTGDRVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQKPKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQSEDFATYYCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQ LKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 99	ДНК, легкая цепь	GCCATCAGACTGACCCAGAGCCCCAGCTCCTTTAGCGCCAGCACCCGGCGACAGAGTGACCATCA CCTGTAGAGCCAGCGAGAGCGTGGAAATATTACGGCACCAGCCTGATGCAGTGGTATCAGCAGAA GCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCCGCAGCAATGTGAAAAGCGGCGTCCCCAGC AGATTCAGCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCTGACAATCAGCAGCCTGCAGAGCGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCCGGAAGGACCCAGCACATTTGGCGGAGGCACCAA GGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTCCCAGCGTGTTCATCTTCCCCCAGCGACGAGCAG CTGAAGAGCGGCACCCGAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTTACCCCCGGGAGGCCAAGG TGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTCCAGGAGCAGGA CAGCAAGGACTCCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCGACCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTACGCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGAGCTTCA ACAGGGGCGAGTGC
ABTIM3-hum23		
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR1	SYNMH
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR2	DIYPGNGDTSYNQKFKG
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR1	GYTF TSY
SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR2	YPGNGD
SEQ ID NO: 5 (Chothia)	HCDR3	VGGAFPM DY
SEQ ID NO: 100	VH	QVQLVQSGAEVVKPGESLKISCKGSGYTF TSYNMHWVRQMPGKLEWMDIYPGNGDTSYNQKF KGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPM DYWGQTTTVVSS
SEQ ID NO: 101	ДНК, VH	CAGGTGCAATGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAACCAGGAGAGAGTTTGAAAATTCCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGCAA GGGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGCAATGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGACAGACAAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCCCATGTACTATTCGCTCGGGTAGGTGGCGGTTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 102	Тяжелая цепь	QVQLVQSGAEVVKPGESLKISCKGSGYTF TSYNMHWVRQMPGKLEWMDIYPGNGDTSYNQKF KGQVTISADKSI STVYLQWSSLKASDTAMYICARVGGAFPM DYWGQTTTVVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPELLEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALAAPIEKTI SKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

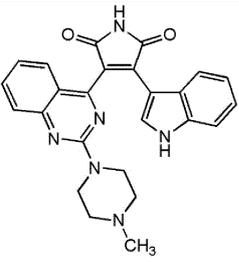
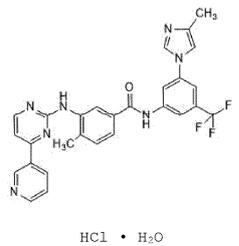
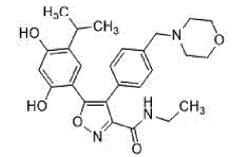
SEQ ID NO: 103	ДНК, тяжелая цепь	CAGGTGCAATTGGTACAGTCTGGCGCAGAAGTAAAGAAAACCAGGAGAGAGTTTGAAAATTTCTCT GCAAGGGCAGTGGGTACACATTCACGTCTACAATATGCACTGGGTGAGACAGATGCCAGGC GGCCTGGAGTGGATGGGAGACATATACCCAGGCAATGGAGACACAAGCTATAATCAGAAATTC AAAGGACAGGTGACGATCTCCGACAGACAATCCATATCTACGGTCTACCTCCAGTGGTCTCAC TTAAAGCCTCCGACACCGCCATGTACTATTGGCTCGGGTAGGTGGGCGGTTTCCAATGGACTA TTGGGGCCAAGGGACCACAGTAACCGTCAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCCAGCGTGTCCCC CTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCAGCGGGCCACAGCCGCTGGCTGCCTGGTGAAGGACT ACTTCCCCGAGCCCGTACCGTGTCTGGAACAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGACACCTT CCCCCGCTGTGCAGAGCAGCGCCGTACAGCTGTCCAGCGTGGTACAGTCCCAGCAGC AGCCTGGGCACCCAGACTACATCTGCAACGTGAACCACAAGCCAGCAACACCAAGTGGACA AGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCACACCTGCCCCCCCTGCCAGCCCCAGAGCT GCTGGGCGGACCCCTCCGTGTTCTCTTCCCCCAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCAGCAGG ACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGCCGTGAGCCACGAGGACCAGAGGTGAAGTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAGCAGTACAACAG CACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGTGAACGGCAAGGAATAC AAGTGAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGGCAGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAGG GCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCCTCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AACGGCCAGCCCGAGAACAACACAGACCACCCCCCAGTGTGGACAGCGACGGCAGCTTCT TCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTACGTGCAG CGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCCTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR1	RASESVEYYGTSMLQ
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR2	AASNVES
SEQ ID NO: 8 (Kabat)	LCDR3	QQRKDPST
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR1	SESVEYYGTSL
SEQ ID NO: 13 (Chothia)	LCDR2	AAS
SEQ ID NO: 14 (Chothia)	LCDR3	SRKDPS
SEQ ID NO: 104	VL	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSMLQWYQKPKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 105	ДНК, VL	GCAATACAGTTGACACAGAGTCCCTCAAGTTTGTCCGCTTCCGTTGGCGACCGAGTGACAATCA CCTGTAGAGCATCCGAGTCAGTGGAGTATTATGGCACTAGCCTGATGAGTGGTATCAGCAAAA GCCAGGGAAGCCCCAAGCTGCTGATATATGCCGCGAGTAACGTGAGTCAAGGGTGCATCA AGATTCTCCGGTTCGGGTCCGGAACCGACTTCACACTGACCTACTCTTCCCTTCAGCCAGAGG ACTTCGCTACGTACTTTTGCCAGCAGTCACGGAAGATCCCTCTACTTTCCGGAGTGGGACAAA AGTCGAAATAAA
SEQ ID NO: 106	Легкая цепь	AIQLTQSPSSLSASVGDVRTITCRASESVEYYGTSMLQWYQKPKAPKLLIYAASNVESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYFCQQRKDPSTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
SEQ ID NO: 107	ДНК, легкая цепь	gcaatacagttgacacagagtccttcaagtttgccgcttccggtggcgaccgagtgacaatca cctgtagagcatccgagtcagtgagattatggcactagcctgatgagtggtatcagcaaaa gccagggaaagccccaaagctgctgataatgccgagtaacgtcgagtcaggggtgccatca agattctccggttccgggtccggaaccgacttcacactgacctctcttcccttcagccagagg acttcgctacgtacttttgccagcagtcacggaaagatccctctacttccgaggtgggacaaa agtogaataaactgacggtggccgctcccagcgtgttcacttccccccagcgacgagcag ctgaagagcggcaccgcccagcgtggtgctgctgaacaacttctacccccgggagccaaagg tgagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggagagcgtcaccgagcagga cagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctgaccctgagcaaggccgactacgagaag cataaggtgtacgctgcaggtgacccaccagggcctgtccagccccgtgaccaagagcttca acaggggagagtc

Таблица 5. Аминокислотные последовательности константной области тяжелых цепей IgG человека и легких цепей каппа человека.

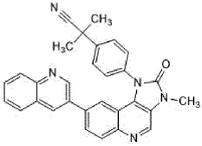
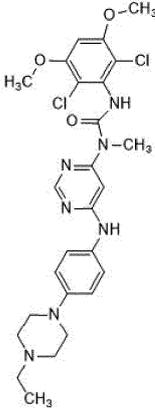
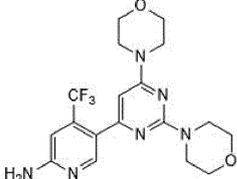
	Аминокислотная последовательность мутантной константной области IgG4 (S228P) (нумерация EU)				
HC	ASTKGPSVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV
	HTFFAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTKT	YTCNVDHKPS	NTKVDKRVES
	KYGPPCPPCP	APEFLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSQED
	PEVQFNWYVD	GVEVIINAKTK	PREEQFNSTY	RVVSVLTVLIH	QDWLNGKEYK
	CKVSNKGLPS	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSQEEMTK	NQVSLTCLVK
	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTPPVLDL	DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG
	NVFSCSVMHE	ALHNHYTQKS	LSLSLGGK	(SEQ ID NO: 108)	
	Аминокислотная последовательность константной области каппа человека				
LC	RTVAAPSVFI	FPPSDEQLKS	GTASVVCLLN	NFYPREAKVQ	WKVDNALQSG
	NSQESVTEQD	SKDSTYSLSS	TLTSLKADYE	KHKVYACEVT	HQGLSSPVTK
	SFNRGEC	(SEQ ID NO: 109)			
	Аминокислотная последовательность мутантной константной области IgG4 (S228P), лишенной С-концевого лизина (K) (нумерация EU)				
HC	ASTKGPSVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV
	HTFFAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTKT	YTCNVDHKPS	NTKVDKRVES
	KYGPPCPPCP	APEFLGGPSV	FLFPPKPKDT	LMISRTPEVT	CVVVDVSQED
	PEVQFNWYVD	GVEVHNAKTK	PREEQFNSTY	RVVSVLTVLH	QDWLNGKEYK
	CKVSNKGLPS	SIEKTISKAK	GQPREPQVYT	LPPSQEEMTK	NQVSLTCLVK
	GFYPSDIAVE	WESNGQPENN	YKTPPVLDL	DGSFFLYSRL	TVDKSRWQEG
	NVFSCSVMHE	ALHNHYTQKS	LSLSLGGK	(SEQ ID NO: 110)	
	IgG1 дикого типа				
HC	ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV
	HTFFAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKRVEP
	KSCDKHTHCP	PCPAPELLGG	PSVFLFPPKP	KDTLMISRTP	EVTCVVVDVS
	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA	KTKPREEQYN	STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK
	EYKCKVSNKA	LPAPIEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSREE	MTKNQVSLTC
	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTPPV	LDSGGSFFLY	SKLTVDKSRW
	QQGNVFSCSV	MHEALHNHYT	QKSLSLSPGK	(SEQ ID NO: 111)	

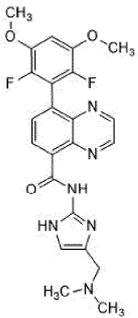
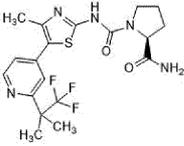
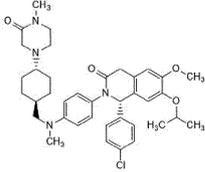
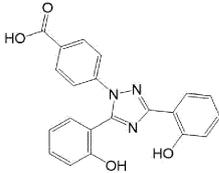
	Аминокислотная последовательность мутантной константной области IgG1 (N297A) (нумерация EU)				
HC	ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV
	HTFFAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKRVEP
	KSCDKTHTCP	PCPAPELLGG	PSVFLFPPKP	KDTLMISRTP	EVTCVVVDVSV
	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA	KTKPREEQYA	STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK
	EYKCKVSNKA	LPAPIEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSREE	MTKNQVSLTC
	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTTTPV	LDSGGSFFLY	SKLTVDKSRW
	QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 112)				
	Аминокислотная последовательность мутантной константной области IgG1 (D265A, P329A) (нумерация EU)				
HC	ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV
	HTFFAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKRVEP
	KSCDKTHTCP	PCPAPELLGG	PSVFLFPPKP	KDTLMISRTP	EVTCVVVAVS
	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA	KTKPREEQYN	STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK
	EYKCKVSNKA	LAAPIEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSREE	MTKNQVSLTC
	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTTTPV	LDSGGSFFLY	SKLTVDKSRW
	QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 113)				
	Аминокислотная последовательность мутантной константной области IgG1 (L234A, L235A) (нумерация EU)				
HC	ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTSGV
	HTFFAVLQSS	GLYSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YICNVNHKPS	NTKVDKRVEP
	KSCDKTHTCP	PCPAPEAAGG	PSVFLFPPKP	KDTLMISRTP	EVTCVVVDVSV
	HEDPEVKFNW	YVDGVEVHNA	KTKPREEQYN	STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK
	EYKCKVSNKA	LPAPIEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSREE	MTKNQVSLTC
	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTTTPV	LDSGGSFFLY	SKLTVDKSRW
	QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 114)				

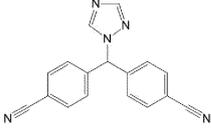
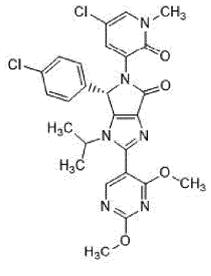
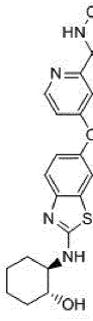
Таблица 6. Отдельные лекарственные средства, которые можно вводить в комбинации с молекулами антител против TIM-3, например, в качестве единственного средства или в комбинации с другими иммуномодуляторами, описанными в настоящем описании. Каждая публикация, приведенная в этой таблице, включена в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме, включая все структурные формулы в ней.

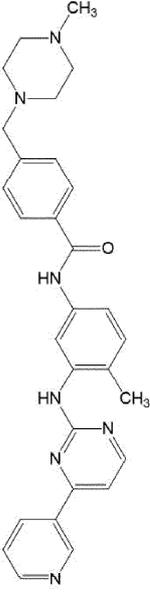
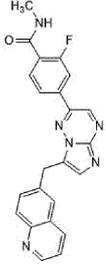
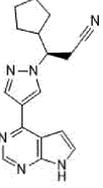
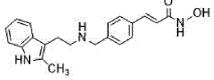
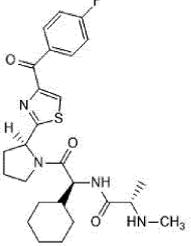
Соединение №	Генерическое название, торговое название	Структура соединения	Патенты/публикации патентных заявок
A1	Сотрастаурин		EP 1682103 US 2007/142401 WO 2005/039549
A2	Нилотиниб HCl моногидрат, TASIGNA®	 HCl • H ₂ O	WO 2004/005281 US 7169791
A3			WO 2010/060937 WO 2004/072051 EP 1611112 US 8450310

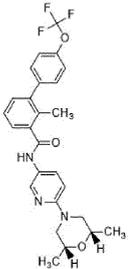
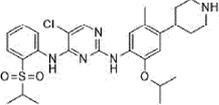
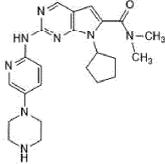
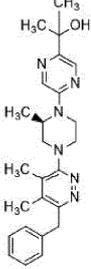
040365

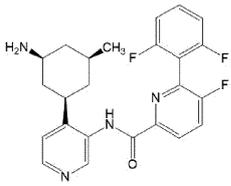
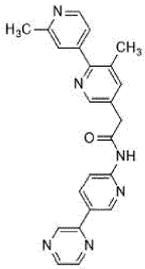
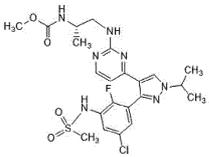
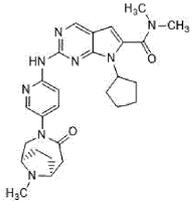
A4	Дактолисиб	 <p>Chemical structure of Daktilisib, featuring a central benzimidazole core with a methyl nitrile group and a methyl group on the benzimidazole ring, and a quinoline moiety attached to the benzimidazole.</p>	WO 2006/122806
A5		 <p>Chemical structure of A5, featuring a central benzimidazole core with a methyl group on the nitrogen, a chlorine atom, and a methoxy group on the benzimidazole ring, and a piperazine ring attached to the benzimidazole.</p>	US 8552002
A6	Бупарлисиб	 <p>Chemical structure of Бупарлисиб, featuring a central benzimidazole core with a trifluoromethyl group, an amino group, and a piperazine ring attached to the benzimidazole.</p>	WO 2007/084786

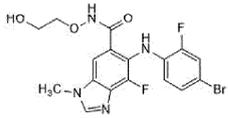
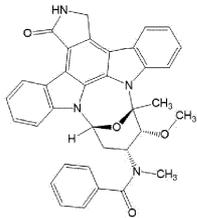
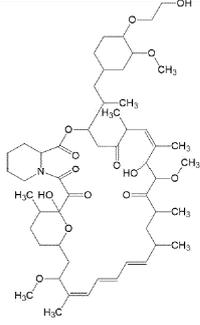
A7			WO 2009/141386, US 2010/0105667
A8			WO 2010/029082
A9		Ингибитор CYP17	WO 2010/149755, US 8263635 B2, EP 2445903 B1
A10			WO 2011/076786
A11	Деферасирокс, EXJADE®		WO 1997/049395

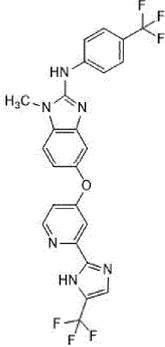
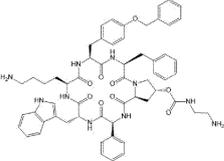
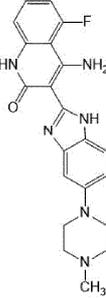
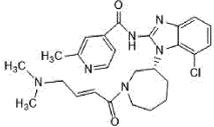
A12	Лектровол, FEMARA®		US 4978672
A13			WO 2013/124826, US 2013/0225574
A14			WO 2013/111105
A15			WO 2005/073224

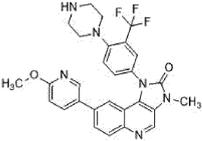
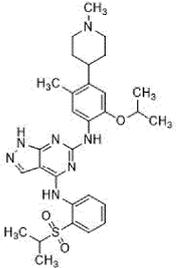
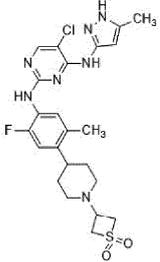
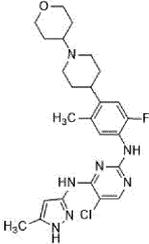
A16	Иматиниба мезилат, GLEEVEC®	 <p>Мезилат</p>	WO 1999/003854
A17		 <p>Дигидрохлорная кислота</p>	EP 2099447, US 7767675, US 8420645
A18	Руксолитиниба фосфат, JAKAFI®	 <p>H₃PO₄</p>	WO 2007/070514 EP 2474545, US 7598257, WO 2014/018632
A19	Панобиностат		WO 2014/072493, WO 2002/022577, EP 1870399
A20	Осилодростат		WO 2007/024945
A21			WO 2008/016893, EP 2051990, US 8546336

A22	Сонидегиба фосфат	 <p>The structure shows a central pyridine ring substituted with a trifluoromethoxy group (-OCF₃) at the 4-position and a methyl group (-CH₃) at the 3-position. The pyridine ring is connected via its nitrogen atom to a methylene group (-CH₂-), which is further linked to another nitrogen atom. This second nitrogen atom is part of a piperidine ring system that has two methyl groups attached to it, one on the carbon adjacent to the nitrogen and another on the carbon two positions away.</p>	WO 2007/131201, EP 2021328, US 8178563
A23	Серитиниб, ZYKADIA™	 <p>The structure features a central pyrimidine ring substituted with a chlorine atom (-Cl) at the 2-position and a sulfonamide group (-NH-SO₂-) at the 4-position. The pyrimidine ring is connected via its nitrogen at the 6-position to a methylene group (-CH₂-), which is further linked to another nitrogen atom. This second nitrogen atom is part of a piperidine ring system that has a methyl group (-CH₃) and an isopropoxy group (-OCH₂CH(CH₃)₂) attached to it.</p>	WO 2008/073687, US 8039479
A24		 <p>The structure shows a central pyridine ring substituted with a methyl group (-CH₃) at the 3-position and a methylamino group (-NH-CH₃) at the 4-position. The pyridine ring is connected via its nitrogen at the 2-position to a methylene group (-CH₂-), which is further linked to another nitrogen atom. This second nitrogen atom is part of a piperidine ring system that has a methyl group (-CH₃) and a methylamino group (-NH-CH₃) attached to it.</p>	US 8415355, US 8685980
A25		 <p>The structure shows a central piperidine ring substituted with a methyl group (-CH₃) at the 2-position and a methylamino group (-NH-CH₃) at the 4-position. The piperidine ring is connected via its nitrogen at the 1-position to a methylene group (-CH₂-), which is further linked to another nitrogen atom. This second nitrogen atom is part of a piperidine ring system that has a methyl group (-CH₃) and a methylamino group (-NH-CH₃) attached to it.</p>	WO 2010/007120
A26		Моноклональное антитело человека к PRLR	US 7867493

A27			WO 2010/026124, EP 2344474, US 2010/0056576, WO2008/106692
A28			WO 2010/101849
A29	Энкорифениб		WO 2011/025927
A30			WO 2011/101409
A31		Моноклональное антитело человека к HER3	WO 2012/022814, EP 2606070, US 8735551

A32		Конъюгат антитело- лекарственное средство (ADC)	WO 2014/160160 Аб: 12425 (см. Таблицу 1, абзац [00191]) Линкер: SMCC (см. Абзац [00117] Груз: DM1 (см. Абзац [00111]) Также см. п.29 формулы изобретения
A33		Моноклональное антитело или Fab к M-CSF	WO 2004/045532
A34	Биниметиниб		WO 2003/077914
A35	Мидостаурин		WO 2003/037347, EP 1441737, US 2012/252785
A36	Эверолимус, AFINITOR®		WO 2014/085318

A37			WO 2007/030377, US 7482367
A38	Пасиретотида диаспаргат, SIGNIFOR®		WO2002/010192, US 7473761
A39	Довитиниб		WO 2009/115562, US 8563556
A40			WO 2013/184757

A41			WO 2006/122806
A42			WO 2008/073687, US 8372858
A43			WO 2010/002655, US 8519129
A44			WO 2010/002655, US 8519129

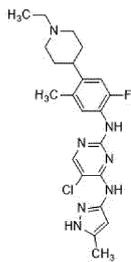
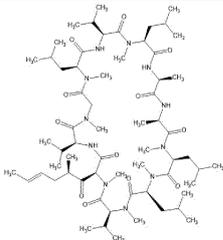
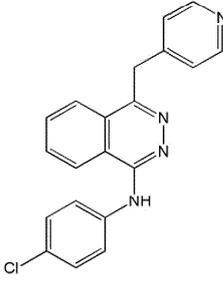
A45			WO 2010/002655
A46	Вальсподар, AMDRAY™		EP 296122
A47	Ваталаниба сукцинат	 Сукцинат	WO 98/35958
A48		ингибитор IDH	WO2014/141104
A49		Ингибитор BCR-ABL	WO2013/171639 WO2013/171640 WO2013/171641 WO2013/171642
A50		Ингибитор cRAF	WO2014/151616
A51		Конкурентный ингибитор ERK1/2 ATP	PCT/US2014/062913

Таблица 7. См. примеры.

Таблица 8. См. примеры.

Таблица 9. См. примеры.

Таблица 10. См. примеры.

Таблица 11. См. примеры.

Таблица 12. См. примеры.

Таблица 13. См. примеры.

Таблица 14. См. примеры.

Таблица 15. См. примеры.

Таблица 16. См. примеры.

Примеры

Пример 1. Охарактеризация АВТІМ3 и других антител против ТІМ-3.

Панели антител против ТІМ-3 анализировали в отношении связывания с экспрессирующими ТІМ-3 клетками. Константы диссоциации (K_D) двух таких антител, АВТІМ3 и антитела против ТІМ-3 #2, при измерении с использованием поверхностного плазмонного резонанса, обобщенно представлены на фиг. 2А. На фиг. 2В и 2С, связывание различных антител против ТІМ-3, включая АВТІМ3, с клетками, трансфицированными ТІМ-3 человека, измеряли с использованием проточной цитометрии. Далее три антитела: АВТІМ3, антитело против ТІМ-3 #2 и антитело против ТІМ-3 #3, и контрольное антитело анализировали в отношении способности связывать ТІМ-3 яванского макака в клетках, трансфицированных ТІМ-3 яванского макака. На фиг. 2D показано, что из трех исследованных антител АВТІМ3 имеет наиболее высокую аффинность к в отношении ТІМ-3 яванского макака. На фиг. 2Е представлено исследование семи антител против ТІМ-3 человека в отношении связывания с ТІМ-3 яванского макака и показано, что АВТІМ3 связывается с наиболее высокой аффинностью. В целом, эксперименты указывают на то, что АВТІМ3 имеет высокую (субнаномолярную) аффинность в отношении ТІМ-3 как человека, так и яван-

ского макака.

Способность трех антител против TIM-3, включая АВТИМ3, связываться с TIM-4 человека, экспрессируемым в клетках СНО, и TIM-3 мыши, экспрессируемым в клетках, также измеряли проточной цитометрией. TIM-3 человека обладает приблизительно 23% идентичностью последовательности с TIM-4 человека. TIM-3 мыши обладает приблизительно 66% идентичностью последовательности с TIM-3 человека и 64% идентичностью последовательности с TIM-3 яванского макака. Результаты этих анализов демонстрируют, что АВТИМ3 не связывается с TIM-4 человека. АВТИМ3 также не реагирует перекрестно с TIM-3 мыши. В совокупности с результатами анализа связывания, описанными выше, антитело АВТИМ3 является специфичным в отношении TIM-3 человека и яванского макака.

В эксперименте с перекрестным блокированием было показано, что АВТИМ3 перекрестно блокирует антитело против TIM-3 #2, что указывает на то, что эти антитела связываются с эпитопами, которые находятся вблизи друг друга, и возможно перекрываются, хотя эти два эпитопа не обязательно являются идентичными.

Также оценивали способность антител против TIM-3, например АВТИМ3, связываться с активированными РВМС, экспрессирующими TIM-3. РВМС цельной крови человека от донора стимулировали в течение 10 суток связанными с планшетом CD3/CD28 (по 1 мкг/мл каждого), в присутствии 10 нг/мл рекомбинантного IL-12 человека. Клетки обрабатывали фиколлом для удаления погибших клеток и реактивировали в течение трех суток посредством того же стимула. Антитела, которые связываются с TIM-3, например АВТИМ3 и антитело против TIM-3 #2, сравнивали и в качестве контрольных антител использовали антитело против PD-1, против PD-L1 и против LAG-3 и IgG1 мыши. Клетки инкубировали с антителами в различных концентрациях от 0,001 до 100 мкг /мл и связывание антител с клетками анализировали проточной цитометрией. Клетки ограничивали положительными по CD4 или по CD8 популяциями и среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) для каждого антитела и концентрации наносили на график. Затем вычисляли величины константы диссоциации (K_D). Результаты анализов представлены в табл. 7 ниже.

Таблица 7. Величины K_D для связывания антитела против TIM-3 с активированными РВМС.

Антитело	Ограниченные по CD4	Ограниченные по CD8
	РВМС, K_D	РВМС, K_D
АВТИМ3	0,29 нМ	0,30 нМ
Антитело против TIM-3 #2	2,84 нМ	3,14 нМ
Антитело против PD-L1, контроль	0,20 нМ	0,30 нМ
Антитело против LAG-3, контроль		2,33 нМ
Антитело против PD-1, контроль	22,8 нМ	85,9 нМ

Эти результаты демонстрируют, что АВТИМ3 было способно связываться с TIM-3, экспрессируемым на активированных РВМС.

Пример 2. Анализ доменов антитела против TIM-3, связывающихся с TIM-3.

TIM-3 имеет внеклеточный IgV-домен и домен муцина. Области TIM-3, связываемые каждым из пяти антител, определяли с использованием рекомбинантной конструкции, которая заменяла IgV-домен TIM-3 IgV-доменом PD-1, и эта конструкция представлена на фиг. 3А. На фиг. 3В показано, что моноклональное антитело против TIM-3 (антитело против TIM-3 #3), и два контрольных моноклональных антитела против PD-L1 (антитела против PD-L1 #1 и #2), связываются с химерным белком, представленным на фиг. 3А, в то время как антитело против TIM-3 #2 и АВТИМ3 по существу не связываются. Этот результат указывает на то, что моноклональные антитела против TIM-3: антитело против TIM-3 #2 и АВТИМ3, связываются с IgV-доменом TIM-3, в то время как антитело против TIM-3 #3 связывается с доменом муцина TIM-3. Величины констант диссоциации (K_D), вычисленные для каждого исследуемого антитела в отношении рекомбинантной конструкции, представлены в табл. 8.

Таблица 8. Величины K_D для связывания с конструкцией IgV PD-L1/домен муцина TIM-3.

Антитело	Антиген	K_D
Антитело против PD-L1 #1	IgV-домен PD-L1	0,52 нМ
Антитело против PD-L1 #2	IgV домен PD-L1	0,38 нМ
Антитело против TIM-3 #3	Домен муцина TIM-3	2,71 нМ
Антитело против TIM-3 #2	TIM-3	Отсутствие связывания с химерным белком
ABTIM3	TIM-3	Отсутствие связывания с химерным белком

Пример 3. Связывание TIM-3 с PtdSer блокируется антителами против TIM-3.

TIM-3 связывается с PtdSer (фосфатидилсерин) липидом, который обычно присутствует на поверхности апоптотических клеток, но не нормальных клеток. Клетки WR19L(Fas), обработанные антителом против CD95, культивировали в условиях, которые стимулируют накопление PtdSer на клеточной поверхности (перемещение PtdSer с внутренней мембраны на внешнюю при индукции апоптоза). К клеткам добавляли TIM-3-Ig (внеклеточный домен huTIM-3, слитый с Fc-областью Ig) и связывание TIM-3-Ig с клетками анализировали в присутствии различных антител. Как показано на фиг. 4, несколько mAb против TIM-3, включая ABTIM3, антитело против TIM-3#5 и антитело против TIM-3 #2, ингибируют связывание TIM-3 с PtdSer.

Пример 4. Секреция IFN-гамма CD4+ клетками усиливается антителами против TIM-3.

Анализировали способность четырех антител усиливать секрецию IFN-гамма и пролиферацию стимулированных IL-12 CD4+ клеток. В этом анализе использовали наблюдение, что высокая доза IL-12 индуцирует экспрессию TIM-3 и обеспечивает истощенный фенотип Т-клеток (см. Yang et al., J. Clin. Invest. 122:4 p1271 2012). На фиг. 5А представлены четыре панели, каждая из которых указывает на результаты эксперимента, где клетки подвергали воздействию антитела, выбранного из ABTIM3, антитела против TIM-3 #2, mIgG1 и антитела против PD-L1 (контрольное антитело против PD-L1). После рестимуляции РМА/иономицином, и фиксации, и увеличения проницаемости клеток полученные уровни IFN-гамма измеряли проточной цитометрией (ось y) и пролиферацию измеряли по флуоресценции CFSE (ось x). На фиг. 5В количественно представлена экспрессия IFN-гамма в клетках, подвергнутых воздействию этих четырех антител. Слева направо, столбики на фиг. 5В соответствуют антителу ABTIM3, антителу против TIM-3 #2, контрольному антителу против PD-L1 и mIgG1.

Пример 5. Блокада TIM-3 усиливает функциональную активность *in vitro*.

5.1. Блокада TIM-3 усиливает цитотоксическую активность *in vitro* очищенных NK-клеток

TIM-3 на высоком уровне экспрессируется эндогенно на NK-клетках (натуральные киллеры); его экспрессия, кроме того, индуцируется на активированных NK-клетках. TIM-3 может действовать, восстанавливая функцию NK-клеток, как и другие ингибиторные рецепторы. См. Ndhlovu et al., Blood 119:3734, 2012, и Silva et al., Cancer Immunol Res 2:410, 2014. Таким образом оценивали способность ABTIM3 и других антител против TIM-3 усиливать цитотоксическую активность NK-клеток.

В этом анализе NK-клетки очищали из цельной крови посредством отрицательной селекции на гранулах, а затем инкубировали с антителом (10 мкг/мл) при 37°C. Через 1 ч добавляли клетки-мишени K562. После инкубации в течение 4 ч при 37°C измеряли процентное уничтожение клеток K562. Антитело ABTIM3 приводило к повышенным уровням уничтожения клеток K562 относительно антитела против TIM-3 #2 или изотипического контроля.

5.2. Блокада TIM-3 увеличивает пролиферацию в сокультурах аутологичных Т-DC

TIM-3 может экспрессироваться на дендритных клетках (DC) и Т-клетках. Наивные Т-клетки и дендритные клетки выделяли из донорных образцов. Наивные Т-клетки и общепринятые DC сокультивировали в течение четырех суток в присутствии антитела против CD3/CD28. В сокультуру добавляли ABTIM3 в различных дозах: 0,01 мкг/мл, 0,1 мкг/мл, 1 мкг/мл, 5 мкг/мл и 25 мкг/мл. Пролиферацию клеток обнаруживали посредством анализа пролиферации с CFSE, который основан на разведении красителя CFSE для обнаружения пролиферирующих клеток.

Как показано на фиг. 22, присутствие ABTIM3 в каждой исследованной дозировке приводило к увеличению количества пролиферирующих клеток, на что указывают клетки с разведенным CFSE, по сравнению с отсутствием антитела и изотипическим контролем (IgG1) мыши.

Пример 6. Охарактеризация гуманизированного антитела против TIM-3.

6.1. Получение гуманизированных антител против TIM-3

Антитело мыши против TIM-3 ABTIM3 гуманизировали посредством пересадки CDR, например, представленных в табл. 3, в константную область IgG4 человека со стабилизированной шарнирной областью, содержащей мутацию S228P. Дополнительные модификации вносили в CDR2 тяжелой цепи пу-

тем внесения мутации в предполагаемый участок дезамидации с N в положении 6 HCDR (Kabat) или положении 4 HCDR2 (Chothia) на S или Q для устранения участка дезамидации. Другие модификации включали использование альтернативных каркасных областей. Уникальные тяжелые цепи и легкие цепи комбинировали в различных комбинациях, получая небольшую библиотеку уникальных гуманизированных mAb.

6.2. Анализы связывания

Связывающую способность полученных гуманизированных mAb исследовали с использованием конкурентного связывания родительского антитела мыши против TIM-3 в анализе с помощью сортировки флуоресцентно-активированных клеток.

Репрезентативный график, на котором представлены результаты конкурентного анализа на основе FACS, сравнивающего связывание между родительским антителом мыши против TIM-3 и 4 гуманизированными антителами против TIM-3 (ABTIM3-hum01, ABTIM3-hum04, ABTIM3-hum07 и ABTIM3-hum08) и контрольным hIgG4 представлены на фиг. 7.

Результаты множества анализов связывания Biacore с использованием поверхностного плазмонного резонанса для панели гуманизированных антител против TIM-3 обобщенно представлены в табл. 9.

Таблица 9. Величины K_D в Biacore в отношении панели антител против TIM-3.

Клон	K_D (нМ)	K_D (нМ)	K_D (нМ)	K_D (нМ)
	4,7,14	4,29,14	5,1,14	5,30,14
ABTIM3-hum02		0,308	0,269	0,174
ABTIM3-hum03		0,351	0,16	0,314
ABTIM3-hum05		0,313	0,279	0,332
ABTIM3-hum06		0,498	0,214	0,364
ABTIM3-hum09				0,161
ABTIM3-hum10				0,107
ABTIM3-hum11				0,194
ABTIM3-hum12				0,355
ABTIM-hum01				0,23
ABTIM-hum04				0,172
ABTIM3-hum01	0,103		0,114	0,193
ABTIM3-hum07	0,135		0,199	0,196
ABTIM3-hum08	0,123		0,309	0,175
ABTIM3-hum04	0,216			

Все из исследованных гуманизированных mAb имеют относительно такую же аффинность, что все другие и родительское антитело мыши против TIM-3, находящаяся в пределах K_D 0,1-0,5 нМ.

6.3. Связывание с экспрессирующими TIM-3 клетками

Гуманизированные антитела против TIM-3 анализировали в отношении связывания с экспрессирующими TIM-3 клетками с использованием флуоресцентно-активированной сортировки клеток и анализа Biacore, как описано в примере 1. На фиг. 8А, связывание различных гуманизированных антител против TIM-3 с клетками, трансфицированными TIM-3 человека, измеряли с использованием проточной цитометрии. В качестве положительного контроля использовали ABTIM3. Отрицательные контроли включают hIgG4, антитело козы против антител человека и вторичное Ab козы против антител мыши с FITC. Результаты проточно-цитометрического конкурентного анализа использовали для определения константы диссоциации (K_D) в отношении клеток, экспрессирующих TIM-3 человека, как показано в табл. 10 ниже.

Таблица 10. Величины K_D для связывания с клетками, экспрессирующими huTIM-3.

Антитело	K_D (нМ)
ABTIM3-hum03	0,887
ABTIM3-hum11	0,906
ABTIM3-hum21	0,917
ABTIM3	1,04

Конкурентный анализ связывания также проводили для оценки связывания гуманизированных антител против TIM-3, ABTIM3-hum03 и ABTIM3-hum11, с клетками, экспрессирующими TIM-3 человека, в присутствии родительского антитела мыши ABTIM3. Как показано на фиг. 8В, гуманизированные антитела против TIM-3 конкурировали с ABTIM3.

Величины K_D для двух гуманизированных антител против TIM-3 в отношении рекомбинантных слитых белков TIM-3-Ig анализировали с использованием поверхностного плазмонного резонанса в анализе Biacore, как показано в табл. 11.

Таблица 11. Величины K_D в *Biacore* в отношении TIM-3-Ig.

		ТИМ-3 яванского макака/Fc	huTIM- 3/his	mTIM-3/his	ТИМ-3 крысы/Fc
ABTIM3- hum03	K_D (M)	1,04E-09	1,24E-10		
	K_D (M)	3,89E-09	1,84E-10		5,10E-08
	K_D (M)	3,08E-09	7,58E-11		
	Среднее значение K_D (M)	2,67E-09	1,28E-10		
ABTIM3- hum11	K_D (M)	1,24E-09	1,55E-10		
	K_D (M)	3,14E-09	2,26E-10		
	K_D (M)	5,04E-09	1,09E-10		2,97E-07
	Среднее значение K_D (M)	3,14E-09	1,63E-10		

Эти результаты показывают, что гуманизированные антитела против TIM-3 имеют сходную аффинность связывания с белками человека и яванского макака. Гуманизированные антитела против TIM-3 продемонстрировали слабую аффинность связывания с белком TIM-3 крысы/Fc, составляющую порядка 1/1000 от аффинности связывания с huTIM-3/Fc.

Пример 7. рентгеновская кристаллическая структура комплекса TIM-3 человека/ Fab ABTIM3-hum21.

Определяли кристаллическую структуру TIM-3 человека (домен IgV, SEQ ID NO: 220, табл. 12), связанного с Fab-фрагментом гуманизированного антитела против TIM-3 ABTIM3-hum21 (SEQ ID NO: 221 и 222, табл. 12). Как определено ниже, TIM-3 соэкспрессировали с Fab MGB220 в клетках млекопитающих с получением очищенного комплекса. Затем использовали кристаллографию белка для получения данных об атомном разрешении для TIM-3, связанного с Fab ABTIM3-hum21, для определения эпитопа. ABTIM3-hum21, гуманизированное антитело из родительского антитела мыши, содержит каркасную область IgG1 и варибельную область тяжелой цепи SEQ ID NO: 84 и варибельную область легкой цепи SEQ ID NO: 88. ABTIM3-hum21 отличается только на одну аминокислоту в CDR2 тяжелой цепи от гуманизированных антител против TIM, описанных в настоящем описании, и эта отличающаяся аминокислота (Gln55) находится далеко ($>6\text{\AA}$) от эпитопа и, таким образом, не может изменить связывание антигена, что указывает на то, что полученные результаты кристаллической структуры применимы к другим гуманизированным антителам, описанным в настоящем описании.

7.1 Продукция белка

Последовательности TIM-3 и Fab ABTIM3-hum21, полученные для кристаллографии, показаны в табл. 12. Конструкция TIM-3 содержит остатки 22-130 (подчеркнуты) TIM-3 человека (идентификатор UniProt Q8TDQ0, SEQ ID NO: 129) вместе с N- и C-концевыми остатками из рекомбинантного экспрессирующего вектора (показаны строчными буквами, SEQ ID NO: 130). N-концевую сигнальную последовательность из легкой цепи каппа IgG мыши использовали для секреции после экспрессии TIM-3, и она отщеплялась в процессе экспрессии, оставляя интактный N-конец TIM-3. C-конец TIM-3 подвергали слиянию с 6х His-меткой (SEQ ID NO: 133) для очистки. Для Fab ABTIM3-hum21 представлены последовательности тяжелой (SEQ ID NO: 131) и легкой (SEQ ID NO: 132) цепей.

Таблица 12. Аминокислотные последовательности, использованные для определения кристаллической структуры.

Конструкция	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO
ТИМ-3 человека (Q8TDQ0)	MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAYLPC FYTPAAPGNLVPVCWKGKACPVFECGNVLRTERDVN YWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQI PGIMNDEKFNKLVIKPAKVTAPTRQRDFTAAFFRML TTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLAN DLRDSGATIRIGIYIGAGICAGLALALIFGALIFKWYS HSKEKIQNLSLISLANLPPSGLANAVAEGIRSEENIYT IEENVYEVVEEPNEYCYVSSRQQPSQPLGCRFAMP	129
Экспрессирующая конструкция для ТИМ-3 человека	metdtlllwvlllwvpgstgSEVEYRAEVGQNAYLPCF YTPAAPGNLVPVCWKGKACPVFECGNVLRTERDVNY WTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIP GIMNDEKFNKLVIKhhhhh	130
Тяжелая цепь Fab АВТИМ3-hum21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYNMHWVR QAPGGLEWIGDIYPGGDTSYNQKFKGRATMTADKST STVYMEISSLRSEDTAVYYCARVGGAFPMQYWGQGLV TVSSASTKGPSVFFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSCDKTH	131
Легкая цепь Fab АВТИМ3-hum21	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASESVEYYGTSMLQ WYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPDRFSGSGSGTDFT LTISSLQAEDVAVYYCQSRKDPSTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDHKLQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	132

ТИМ-3 соэкспрессировали с Fab АВТИМ3-hum21 в клетках Expi293® для получения комплекса для кристаллографии. Подробнее, 0,3 мг плазмиды, кодирующей ТИМ-3, смешивали с 0,15 мг плазмиды, кодирующей тяжелую цепь Fab АВТИМ3-hum21, и 0,15 мг плазмиды, кодирующей легкую цепь Fab АВТИМ3-hum21, разбавляли до 30 мл средой Opti-MEM® I (Life Technologies) и инкубировали с 1,5 мг полиэтиленimina (Polysciences) в 30 мл той же среды в течение 30 мин. Затем смесь добавляли к 0,6 л клеток Expi293®, выращенных в суспензии в экспрессирующей среде Expi293® (Life Technologies) в количестве 2 миллиона клеток/мл при 37°C с 8% CO₂ для трансфекции. Через 5 суток среду, содержащую комплекс ТИМ-3/Fab АВТИМ3-HUM21, собирали центрифугированием. В среду добавляли 5 мл смолы Ni-NTA и продолжали перемешивать при 4°C в течение ночи. На следующие сутки гранулами заполняли колонку для гель-фильтрации и промывали 25 mM Hepes pH 7,4, 150 mM NaCl (HBS), дополненным 20 mM имидазолом. Комплекс элюировали 3 объемами колонки (CV) HBS с 500 mM имидазолом, а затем подвергали диализу в HBS при 4°C в течение ночи. На следующие сутки комплекс инкубировали с 1/10 (об./об.) PNG-азы F (очищенная на месте) при 37°C в течение ночи для устранения N-связанного гликозилирования. После дегликозилирования смесь связывали обратно с 5 мл смолы Ni-NTA, промывали HBS для удаления PNG-азы F и элюировали HBS с 500 mM имидазолом. Затем элюат концентрировали и наносили на эксклюзионную колонку HiLoad 16/600 Superdex 75 PG (GE Healthcare), уравновешенную HBS. Фракции пиков, содержавшие очищенный комплекс ТИМ-3/Fab АВТИМ3-hum21, анализировали посредством SDS-PAGE, объединяли и концентрировали для кристаллизации.

7.2. Кристаллизация и определение структуры

Комплекс ТИМ-3/Fab АВТИМ3-hum21 концентрировали до 12,5 мг/мл, центрифугировали при 20000 g в течение 10 мин и просеивали для кристаллизации. Кристаллы для сбора данных выращивали способом диффузии пара в висячей капле при 20°C. Подробнее, 0,1 мкл комплекса ТИМ-3/Fab АВТИМ3-hum21 смешивали с 0,1 мкл резервуарного раствора, содержавшего 0,04 M одноосновный фосфат калия, 16% (мас./об.) PEG 8000 и 20% (об./об.) глицерин. Затем каплю уравновешивали против 45 мкл того же резервуарного раствора. Перед сбором данных кристаллы быстро замораживали в жидком азоте.

Данные дифракции получали на линии пучка 17-ID на Advanced Photon Source (Argonne National Laboratory, США) и обрабатывали с использованием Autoproc (версия 1.1.5, Global Phasing, LTD). Данные для ТИМ-3/Fab АВТИМ3-hum21 обрабатывали до 2,0 Å в пространственной группе P2₁ с размерами ячейки a=84,3 Å, b=93,0 Å, c=85,3 Å, альфа=90°, бета=114° и гамма=90°. Структуру комплекса определяли способом молекулярного вытеснения с использованием Phaser (версия 2.5.5, McCoy et al., (2007) J. Appl. Cryst. 40:658-674) со структурами ТИМ-3 мыши (PDB ID: 3KAA) и Fab (собственная структура) в качестве моделей для поиска. Конечную модель конструировали в COOT (версия 0.6 pre, Emsley & Cow-

tan (2004) Acta Cryst. D60:2126-2132) и уточняли с использованием Phenix (версия 1.9, Afonine et al., (2012) Acta Cryst. D68:352-367). Величины R_{work} и R_{free} составляли 17,5% и 22,1%, соответственно; и величины среднеквадратичного (r.m.s) отклонения длин связей и углов связей составляют 0,007 Å и 1,1°, соответственно.

Эпитоп определяли как остатки ТИМ-3, которые содержат атомы, находящиеся в пределах 5 Å от любого атома в Fab АВТИМ3-hum21, идентифицированные посредством CONTACT в пакете программ CCP4 (версия 6.2.0, Winn et al., (2011) Acta Cryst. D67:235-242) и приведенные в табл. 13. В асимметричном элементе (наименьший уникальный элемент в кристалле) существует 2 копии комплексов ТИМ-3/Fab АВТИМ3-hum21, только те контактирующие с антигеном остатки, которые являются общими в обеих копиях, приведены в качестве остатков эпитопов.

7.3. Эпитоп АВТИМ3-hum21 на ТИМ-3

Кристаллическую структуру комплекса ТИМ-3/Fab АВТИМ3-hum21 использовали для идентификации эпитопа АВТИМ3-hum21 на ТИМ-3. Поверхность взаимодействия на ТИМ-3 с АВТИМ3-hum21 была образована несколькими непрерывными и прерывающимися (т.е. несмежными) последовательностями, а именно, остатками Val24, Glu25, Tyr26, Phe39, Tyr40, Thr41, Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60, Phe61, Ser105, Gly106, Ile107, Asn119, Asp120, Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 и Val128, как подробно описано в табл. 13. Эти остатки образуют иллюстративный трехмерный конформационный эпитоп, который распознается АВТИМ3-hum21 (фиг. 9).

Таблица 13. Взаимодействия между ТИМ-3 человека и АВТИМ3-hum21. Остатки ТИМ-3 пронумерованы как в записи UniProt Q8TDQ0 (SEQ ID NO: 219). Остатки антигена пронумерованы на основе их линейной аминокислотной последовательности (SEQ ID NO: 221 и 222) и соответствующие цепи обозначены ("H" для тяжелой цепи, "L" для легкой цепи). Остатки ТИМ-3, представленные здесь, имеют по меньшей мере один атом в пределах 5 Å от атома АВТИМ3-hum21, для учета потенциальных опосредуемых водой взаимодействий.

ТИМ-3		АВТИМ3-hum21		
Аминокислота	Номер	Аминокислота	Номер	Цепь
Val	24	Ala	102	H
		Asp	98	L
Glu	25	Tyr	31	L
		Arg	96	L
Tyr	26	Tyr	31	L
Phe	39	Ser	31	H
		Tyr	52	H
Tyr	40	Ser	31	H
		Thr	28	H
Thr	41	Thr	28	H
Gly	56	Thr	34	L
Ala	57	Phe	103	H
		Thr	34	L
		Asn	57	L
		Tyr	53	L
		Ala	54	L
Cys	58	Tyr	53	L
		Asn	57	L
Pro	59	Asn	57	L
		Tyr	53	L
Val	60	Asn	57	L
		Tyr	53	L

		Val	58	L
		Ser	60	L
		Glu	59	L
Phe	61	Ser	60	L
Ser	105	Tyr	32	L
Gly	106	Tyr	31	L
		Tyr	32	L
Ile	107	Phe	103	H
		Thr	34	L
		Tyr	31	L
		Leu	36	L
Asn	119	Ser	60	L
Asp	120	Tyr	32	H
Glu	121	Tyr	32	H
		Thr	28	H
Lys	122	Tyr	32	H
		Gly	100	H
		Tyr	53	L
		Glu	59	L
Phe	123	Gly	100	H
		Gly	101	H
		Tyr	32	H
Asn	124	Phe	103	H
		Ala	102	H
		Pro	104	H
		Tyr	53	L
Leu	125	Ala	102	H
Lys	126	Ala	102	H
		Tyr	31	L
		Leu	36	L
		Ser	95	L
		Lys	97	L
Leu	127	Tyr	31	L
Val	128	Tyr	31	L
		Tyr	32	L

7.4. АВТІМ3-hum21 против лигандов ТІМ-3

Идентификация эпитопа ТІМ-3, распознаваемого антителом против ТІМ-3, указывает на то, что связывание некоторых из лигандов ТІМ-3 может нарушаться посредством связывания антитела. Известные лиганды ТІМ-3 включают СЕАСАМ-1, фосфатидилсерин (PtdSer), НМGB1 и галектин-9 (Gal-9).

Что касается СЕАСАМ-1, недавнее исследование показало, что СЕАСАМ-1 является лигандом для ТІМ-3, требуемым для его способности опосредовать Т-клеточное ингибирование, и это взаимодействие имеет ключевую роль в регуляции аутоиммунитета и противоопухолевого иммунитета (Huang et al., (2014) Nature). В том же исследовании также были идентифицированы, как биохимически, так и структурно, ключевые аминокислотные остатки ТІМ-3, опосредующие его связывание с СЕАСАМ-1 (фиг. 10А). Эпитоп АВТІМ3-hum21 на ТІМ-3 перекрывается с этими связывающими СЕАСАМ-1 остатками (фиг. 10А), включая С58, N119 и K122. Например, K122 образует водородную связь с N42 СЕАСАМ-1, однако он полностью блокируется посредством АВТІМ3-hum21 (фиг. 10В). Наложение кристаллических структур, полученных для комплексов ТІМ-3/Fab АВТІМ3-hum21 и ТІМ-3/СЕАСАМ-1 (PDB ID: 4QYC), привело к выраженному столкновению между АВТІМ3-hum21 и СЕАСАМ-1 (фиг. 10С). Взятые вместе, эти данные указывают на то, что АВТІМ3-hum21 нарушает связывание СЕАСАМ-1.

Что касается PtdSer, петля FG и петля CC' ТІМ-3 образуют карман (часть называемый зависимым от ионов металлов участком связывания лиганда (MILIBS)), для которого с помощью кристаллической структуры было показано, что он связывается с Ca^{2+} и PtdSer одновременно (DeKruyff, et al., (2010) J Immunol. 184(4):1918-1930). Полагают, что это связывание помогает экспрессирующим ТІМ-3 клеткам связывать и проникать через мембраны апоптотических клеток (которые экспонируют PtdSer) для поглощения. Кристаллическая структура ТІМ-3/Fab АВТІМ3-hum21 указывает на то, что АВТІМ3-hum21 связывает PtdSer-связывающие петли IgV-домена ТІМ-3 человека; и угол атаки антитела указывает на то, что оно препятствует опосредуемому PtdSer проникновению ТІМ-3 через мембрану (фиг. 11).

Что касается НМGB1, было сообщено, что он взаимодействует с ТІМ-3, помогая ассоциированным с опухолью дендритным клеткам подавлять опосредуемый нуклеиновой кислотой иммунный ответ (Chi-

ba et al., (2012) *Nat. Immunol.* 13(9):832-842). Было показано, что аминокислотный остаток в положении 62 TIM-3 (Q в TIM-3 мыши, E в TIM-3 человека) является важным для связывания HMGB1 мыши с TIM-3 мыши. E62 не присутствует в эпитопе АВТИМ3-hum21, хотя он находится очень близко к двум остаткам эпитопа V60 и F61, таким образом, существует вероятность, что АВТИМ3-hum21 может блокировать связывание HMGB1 в зависимости от угла атаки HMGB1 на TIM-3.

Что касается Gal-9, было показано, что он связывает TIM-3 мыши, отрицательно регулируя Th1-иммунный ответ (Zhu et al., (2005) *Nat. Immunol.* 6 (12):1245-1252). Однако также сообщалось, что TIM-3 человека на Т-клетках не действует в качестве рецептора для Gal-9 (Leitner et al., (2013) *PLoS Pathog.* 9(3):e1003253). Для кристаллической структуры TIM-3 человека/Fab АВТИМ3-hum21 половина предполагаемого участка связывания Gal-9 в TIM-3 мыши не является консервативной в TIM-3 человека (N74 и N90 в TIM-3 мыши становятся D74 и R89 в TIM-3 человека), т.е. этот половинный участок в TIM-3 человека не способен связываться с Gal-9. Оставшийся половинный участок (N33 и N99 в TIM-3 человека) является консервативным, однако находится далеко от эпитопа АВТИМ3-hum21 на TIM-3 (фиг. 9А). Таким образом, даже если Gal-9 является лигандом TIM-3 человека, АВТИМ3-hum21 не будет нарушать связывание Gal-9 с TIM-3 человека.

7.5. Экспериментальные условия водородно-дейтериевого обмена

Эксперименты HDx/MS проводили с использованием способов, сходных со способами, описанными в литературе (Chalmers et al., (2006) *Anal. Chem.* 78(4):1005-1014). Эксперименты проводили на платформе Waters HDx/MS, которая включает автодозатор LEAP, nanoACQUITY UPLC и масс-спектрометр Synapt G2. Дейтериевый буфер, использованный для мечения белкового остова TIM-3 человека (а.к. 22-135; SEQ ID NO: 139), представлял собой 25 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 5 мМ CaCl₂ pH7,4 с дейтерием; общий процент дейтерия в растворе составлял 94,2%. Для экспериментов по мечению дейтерием с TIM-3 человека (а.к. 22-135) в отсутствие антитела 300 пмоль TIM-3 человека (а.к. 22-135), объем 7,7 мкл, разбавляли с использованием 100 мкл дейтериевого буфера в охлажденной пробирке и инкубировали в течение 15 мин на устройстве для качания при 4°C. Затем реакцию мечения гасили посредством 100 мкл охлажденного буфера для гашения при 2°C в течение 5 мин, а затем проводили инъекцию на систему LC-MS для автоматического расщепления пепсином и анализа пептидов.

Для экспериментов по мечению дейтерием с TIM-3 человека (а.к. 22-135) в присутствии антител 400 пмоль АВТИМ3-hum03 или АВТИМ3-hum11 сначала иммобилизовывали на гранулах Thermo Protein G Plus и подвергали сшиванию с использованием дисукцинимидила суберата (DSS). Для проведения экспериментов по мечению гранулы с антителами (содержавшие 400 пмоль антитела) инкубировали с 300 пмоль TIM-3 человека (а.к.22-135) в течение 25 мин при 4°C. Через 25 мин гранулы промывали 200 мкл буфера HEPES. Затем добавляли 200 мкл охлажденного дейтериевого буфера (87,5% дейтерий) и комплекс инкубировали в течение 15 мин при 4°C. Через 15 мин дейтериевый буфер удаляли посредством центрифугирования и реакцию мечения гасили 200 мкл охлажденного буфера для гашения на льду в течение 4 мин. После центрифугирования образца в течение 30 с в центрифуге гашеный раствор инжектировали в систему LC-MS для автоматического расщепления пепсином и анализа пептидов.

Во всех экспериментах с дейтериевым обменом проводили гашение с использованием 1 М ТСЕР и 6 М мочевины (рН 2,6). После гашения антиген с обменом подвергали последовательному расщеплению пепсином с использованием колонки с иммобилизованным пепсином Poroszyme Immobilized Pepsin column (2,1×30 мм) при 12°C, а затем улавливанию на колонке для улавливания Waters Vanguard HSS T3. Пептиды элюировали с колонки для улавливания и разделяли на колонке Waters BEH C18 1×100 мм (поддерживаемой при 1°C) при скорости потока 40 мкл/мин с использованием бинарного градиента в течение 8,4 мин от 2 до 35% В (подвижная фаза А представляла собой 99,9% воду и 0,1% муравьиную кислоту; подвижная фаза В представляла собой 99,9% ацетонитрил и 0,1% муравьиную кислоту).

7.6 Результаты водородно-дейтериевого обмена

Для TIM-3 человека мониторинг 93% последовательности проводили посредством дейтериевого обмена, как показано на фиг. 18. На этой фигуре каждая планка соответствует пептиду, мониторинг которого проводили во всех экспериментах по дейтериевому обмену. Для дифференциальных экспериментов между связанным и несвязанным состоянием антител, является информативным исследование различий в захвате дейтерия между двумя состояниями. На фиг. 19 отрицательная величина указывает на то, что комплекс TIM-3-антитело претерпевает меньший дейтериевый захват относительно TIM-3 отдельно. Снижение дейтериевого захвата может быть следствием защиты области от обмениваемого дейтерия или стабилизации сети водородных связей. Напротив, положительная величина указывает на то, что комплекс претерпевает более высокий дейтериевый захват относительно TIM-3 отдельно. Увеличение дейтериевого захвата может быть следствием дестабилизации сетей водородных связей (т.е. локализованного разворачивания белка).

АВТИМ3-hum03 обладает идентичными CDR с АВТИМ3-hum11, за исключением того, что АВТИМ3-hum03 имеет глутамин в положении 55 HCDR2, в то время как АВТИМ3-hum11 имеет аспарагин в положении 55 HCDR2. АВТИМ3-hum03 имеет такие же области CDR, что и АВТИМ3-hum21. Можно ожидать, что эти антитела будут иметь один и тот же эпитоп на TIM-3. Из фиг. 19 видно, что АВТИМ3-hum03 и

АВТІМ3-hum11 проявляють один і той же профіль захисти, який погодиться з тим, що ці два антигена мають один і той же епітоп. Більш детальне вивчення фіг. 19 демонструє, що, коли ТІМ-3 знаходиться в комплексі з будь-яким з двох антител, багато областей ТІМ-3 піддаються значущій захисти, як правило, визначеної як захиста, менша або рівна -0,5 Да (Houde et al. (2010) J. Pharma. Sci. 100(6):2071-2086). Наблюдення широкого захисти вказує на те, що зв'язування будь-якого з двох антител з антигеном ТІМ-3 викликає широку стабілізацію на основі мереж водородних зв'язків в ТІМ-3. Ця широка захиста є доповненням до захисти, яка є результатом екранування епітопа розчинником на поверхні контакту антитело-антиген. Враховуючи значущий рівень широкого захисти, є корисним ранжирування порядку найбільш захищених областей ТІМ-3 при зв'язуванні антитела для встановлення областей, ймовірно залучених в епітоп. Области ТІМ-3, які найбільш захищені при зв'язуванні АВТІМ3-hum03 або АВТІМ3-hum 11, включають області 23-25 (EVE), 41-61 (ТРААРGNLVPVCWGKGACPVF, SEQ ID NO: 140), 73-77 (RDVNY, SEQ ID NO: 141), і 121-127 (EKFNLKL, SEQ ID NO: 142). Порівняння цих захищених областей з даними рентгеновської кристаллографії, узагальнено представленими в табл. 13, демонструє стабільне співвідношення, вказуюче на те, що епітоп, визначений з допомогою рентгеновської кристаллографічної структури, присутствує в розчині.

Приклад 8. Експресія ТІМ-3 при злоякісній пухлині.

ТІМ-3 експресується при різних злоякісних пухлинах. В цьому прикладі використовували декілька різних способів аналізу для ідентифікації злоякісних пухлин з експресією ТІМ-3, при яких терапевтична користь може бути досягнута з використанням антитела проти ТІМ-3.

8.1. Імуногістохімічне фарбування пухлин

АВТІМ-3 використовували для фарбування різних пухлинних тканин. Експресія ТІМ-3 в пухлині була ідентифікована при плоскоклітинній карциномі шлунка, первинній і метастазуючій нирковоклітинній раці, раці ободочної і прямої кишки і лейкоцитних стовбурових клітинах при АМЛ.

8.2. Аналіз експресії в базах даних TCGA і ICGC

В цілому, експресію ТІМ-3 порівнювали з базою даних The Cancer Genome Atlas (TCGA) і базою даних International Cancer Genome Consortium (ICGC). Наступні злоякісні пухлині були ідентифіковані як маючі найбільш високу експресію ТІМ-3: дифузійна великочітинна В-лімфома (DLBCL), світлочітинна карцинома нирки (KIRC), мультиформна гліобластома (GBM), карцинома носоглотки (NPC), аденокарцинома легкого (LUAD), карцинома папілярних клітин нирки (KIRP), мезотеліома (MESO), гострий мієлоїдний лейкоцит (AML) і рак молочної залози трійного відричального (TN) імуномодулюючого (IM) підтипу (фіг. 12).

Далі ідентифікували злоякісні пухлині, які характеризувалися високою експресією ТІМ-3 разом з високою експресією інших маркерів імунних клітин. Інші маркери імунних клітин включають: Т-клітинний маркер CD3ε, маркер Т-регуляторних клітин FoxP3, маркер натуральних кіллерів NKp30, маркер макрофагів CD68 і маркер дендритних клітин CD11c. Як показано на фіг. 12, були ідентифіковані онкологічні захворювання з високою експресією ТІМ-3 і інших маркерів імунних клітин. "Високу" експресію кількісно визначали з використанням експресуючих пухлин 3-го квартиля (або 25% найбільш високих) серед більш ніж 34000 випадків. Для ТІМ-3 і CD3ε, основними захворюваннями були великочітинна В-лімфома (DLBCL), карцинома носоглотки (NPC) і світлочітинна карцинома нирки (KIRC). Для ТІМ-3 і FoxP3, основними захворюваннями були дифузійна великочітинна В-лімфома (DLBCL), карцинома носоглотки (NPC) і аденокарцинома легкого (LUAD). Для ТІМ-3 і NKp30, основними показаннями були дифузійна великочітинна В-лімфома (DLBCL), карцинома носоглотки (NPC) і гострий мієлоїдний лейкоцит (AML). Для ТІМ-3 і CD68, основними захворюваннями були дифузійна великочітинна В-лімфома (DLBCL), світлочітинна карцинома нирки (KIRC) і карцинома папілярних клітин нирки (KIRP). Для ТІМ-3 і CD11c, основними захворюваннями були дифузійна великочітинна В-лімфома (DLBCL), мезотеліома (MESO) (хоча оцінювали тільки невеликий зразок) і карцинома папілярних клітин нирки (KIRP).

Також проводили порівняння кореляції між ТІМ-3 або PD-1 і асоційованими з Т-клітками або асоційованими з макрофагами маркерами в базі даних TCGA. Аналіз продемонстрував кореляцію між експресією ТІМ-3 і як з асоційованими з Т-клітками маркерами (наприклад, ZAP70, CD3D, CD3G, CD8B, GZMH, GZMK і ITK), так і з асоційованими з макрофагами маркерами (наприклад, LILRB4, MRC1, MSR1, SIGLEC1, TREM2, CD163, ITGAX і ITGAM), однак експресія ТІМ-3 в більшій ступені асоційована з макрофагальними маркерами, особливо інгібіторними рецепторами на макрофагах (наприклад, LILRB4). Профіль експресії макрофагів, наприклад, асоційованих з макрофагами маркерів (наприклад, LILRB4, MRC1, MSR1, SIGLEC1, TREM2, CD163, ITGAX, і ITGAM), визначали для різних злоякісних пухлин, і на фіг. 13 вони організовані по найбільш високим експресуючим пухлинам профіля макрофагів. Онкологічні захворювання з високою експресією профіля макрофагів є такими ж захворюваннями, що і в випадку високої експресії ТІМ-3.

Пример 9. Выбор пациентов, исходя из статуса PDL1/CD8/IFN- γ .

Для каждого из нескольких типов злокачественной опухоли образцы от множества пациентов исследовали в отношении статуса PDL1/CD8/IFN- γ . Каждый образец классифицировали как: тройной отрицательный по PDL1/CD8/IFN- γ , однократно или двойной положительный по этим маркерам или тройной положительный по этим маркерам. На фиг. 14 показано, что в этом эксперименте в популяции пациентов следующие типы злокачественной опухоли часто являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ : рак легкого (плоскоклеточный), рак легкого (аденокарцинома), рак головы и шеи, рак шейки матки (плоскоклеточный), рак желудка, рак щитовидной железы, меланома и рак носоглотки. Пациенты, имеющие эти типы злокачественной опухоли, являются хорошими кандидатами для терапии антителами против PD-1 и комбинированных способов терапии, как описано в настоящем описании. Вероятность успешного лечения может быть далее усилена путем определения того, какие пациенты являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ , и лечения тройных положительных пациентов антителами против TIM-3, отдельно или в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами (например, ингибитор PD-1 или ингибитор PD-L1), и/или комбинированными способами терапии, как описано в настоящем описании.

На фиг. 15 показано, что в популяции пациентов следующие типы злокачественной опухоли редко являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ : ER+ рак молочной железы и рак поджелудочной железы. Примечательно, даже в злокачественных опухолях, которые обычно не являются положительными PDL1/CD8/IFN- γ , можно увеличить вероятность успешного лечения посредством определения того, какие пациенты являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ , и лечения тройных положительных пациентов антителами против TIM-3, отдельно или в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами (например, ингибитор PD-1 или ингибитор PD-L1) и/или комбинированными способами терапии, как описано в настоящем описании.

На фиг. 16 показана доля пациентов с раком молочной железы, которые являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ . Рассматривая рак молочной железы в целом, доля тройных положительных пациентов является довольно низкой. Однако, если сфокусироваться только на раке молочной железы IM-TN, можно видеть, что значительно больший процент пациентов являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ . Рак молочной железы IM-TN особенно трудно лечить общепринятыми способами терапии. Открытие, что рак молочной железы IM-TN часто является тройным положительным по PDL1/CD8/IFN- γ обеспечивает новые направления терапии этой злокачественной опухоли антителами против TIM-3, отдельно или в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами (например, ингибитор PD-1 или ингибитор PD-L1) и/или комбинированными способами терапии, как описано в настоящем описании.

На фиг. 17 показана доля пациентов с раком толстого кишечника, которые являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ . Рассматривая рак толстого кишечника в целом, доля тройных положительных пациентов является довольно низкой. Однако, если сфокусироваться только на раке молочной железы с высокой MSI (высокая нестабильность микросателлитов), можно видеть, что значительно больший процент пациентов являются тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ . Уровни MSI можно анализировать с использованием, например, коммерчески доступных способов на основе ПЦР.

Образцы рака желудка исследовали в отношении уровней PDL1/CD8/IFN- γ (данные не представлены). Было обнаружено, что при раке желудка с высокой MSI или EBV+ раке желудка, приблизительно 49% были положительными по PDL1, и высокая доля положительных по PDL1 клеток были тройными положительными по PDL1/CD8/IFN- γ . Также было обнаружено, что часть положительных по PDL1 клеток и положительных по PDL1/CD8/IFN- γ клеток также были положительными по PIK3CA. Эти данные указывают на то, что эти злокачественные опухоли можно лечить антителом против TIM-3, отдельно или в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами (например, ингибитор PD-1 или ингибитор PD-L1), необязательно в комбинации с терапевтическим средством, направленным на PIK3.

Образцы CRC с высокой MSI исследовали в отношении комбинации маркеров (данные не представлены). Было обнаружено, что в образцах CRC с высокой MSI высокая доля образцов PDL1/CD8/IFN- γ также была положительной по LAG-3, PD-1 (также называемый PDCD1), RNF43 и BRAF. Эти данные указывают на то, что эти злокачественные опухоли можно лечить антителом против TIM-3, необязательно в комбинации с терапевтическим средством, которое нацелено на один или несколько из LAG-3, PDCD1, RNF43 и BRAF.

Плоскоклеточный рак легкого исследовали в отношении комбинации маркеров (данные не представлены). Было обнаружено, что в образцах плоскоклеточного рака легкого высокая доля положительных по PDL1/CD8/IFN- γ образцов также являются положительными по LAG-3. Эти данные указывают на то, что эти злокачественные опухоли можно лечить антителом против TIM-3, необязательно в комбинации с терапевтическим средством, которое нацелено на LAG-3, например антитело против LAG-3.

Папиллярный рак щитовидной железы исследовали в отношении комбинации маркеров, включая мутацию V600E BRAF (данные не представлены). Было обнаружено, что высокая доля образцов рака

щитовидной железы, которые являются положительными по PDL1, также является положительной по V600E BRAF. Эти данные указывают на то, что эти злокачественные опухоли можно лечить антителом против TIM-3, отдельно или в комбинации с одним или несколькими иммуномодуляторами (например, ингибитор PD-1 или ингибитор PD-L1), необязательно в комбинации с терапевтическим средством, которое нацелено на BRAF.

Пример 10. Выбор пациентов, исходя из статуса PD-L1.

Чтобы обеспечить обширное исследование онкологических заболеваний в отношении способов терапии на основе PD-1/PD-L1, авторы настоящего изобретения провели оценку экспрессии PD-L1 как на уровне белка, так и на уровне мРНК в злокачественных опухолях человека, включающих опухоли как легкого, так и печени.

Экспрессию белка PD-L1 оценивали в наборе фиксированных в формалине залитых парафином опухолей немелкоклеточной аденокарциномы (ACA) легкого (NSCLC), плоскоклеточной карциномы (SCC) NSCLC и печеночно-клеточной карциномы (HCC) с использованием иммуногистохимии (ИНС). Экспрессию PD-L1 оценивали полуколичественно с использованием неавтоматизированной методологии оценки гисто-показателя (H-показатель), исходя из интенсивности окрашивания и процента положительных опухолевых клеток. В анализе ИНС, проведенном авторами настоящего изобретения, положительность по PD-L1 (PD-L1+) определяли как H-показатель ≥ 20 . Параллельно исследовали данные экспрессии мРНК PD-L1 от The Cancer Genome Atlas (TCGA) при этих показаниях (503 NSCLC ACA, 489 NSCLC SCC и 191 HCC) и анализировали их путем сравнения экспрессии в соответствующих нормальных тканях от TCGA.

С использованием анализа RNAseq данные вычисляли в качестве $\log_2(\text{RPKM}+0,1)$ после нормализации RSEM с использованием системы OmicSoft RNASeq для онкологических заболеваний от TCGA. Экспрессия PD-L1 является повышенной при ACA и SCC NSCLC относительно HCC. Путем наложения распределений и сравнения уровня экспрессии среди всех показаний от TCGA авторы настоящего изобретения ранжировали профили сверхэкспрессии для PD-L1 и обнаружили, что группа HCC от TCGA имеет значительно сниженные уровни мРНК PD-L1 со средним уровнем $-0,8$ по сравнению с $1,3$ для ACA и $1,5$ для SCC, что соответствует изменению от среднего уровня экспрессии более чем в 2 раза. С использованием RNAseq анализ, проведенный авторами настоящего изобретения, определил 50% случаев аденокарциномы NSCLC, 54% случаев плоскоклеточной карциномы NSCLC и 6% HCC в качестве экспрессирующих PD-L1 на высоком уровне.

Экспрессию белка PD-L1 в опухолевых клетках измеряли в 45 образцах аденокарциномы (ACA) легкого, 47 образцах плоскоклеточной карциномы (SCC) легкого и 36 образцах печеночно-клеточной карциномы (HCC). 16/45 (35,6%) случаев ACA легкого, 21/47 (44,7%) случаев SCC легкого были положительными по PD-L1. Напротив, положительность по PD-L1 наблюдали только в 2/36 (5,6%) образцах HCC.

В общем, с использованием анализа ИНС и RNAseq в больших и независимых наборах образцов NSCLC и HCC человека авторы настоящего изобретения выявили, что экспрессия PD-L1 в большей степени увеличена в NSCLC, чем в HCC. В случае NSCLC данные между аденокарциномой и плоскоклеточным раком были сравнимыми. Важно, что среди большого количества образцов (128 для ИНС и 1183 для RNAseq) для 3 заболеваний наблюдается очень высокое соответствие между анализами на основе белка и мРНК. Таким образом, данные, полученные авторами настоящего изобретения, устанавливают основу для крупномасштабного сбора данных на основе мРНК в TCGA для заболеваний и сегментов пациентов, у которых могут быть усилены ответы на иммунную терапию на основе PD-1/PD-L1-и/или TIM-3.

Пример 11. Конкурентные анализы указывают на то, что гуманизированные антитела против TIM3 связываются со сходными эпитопами.

Как описано выше, эпитоп TIM-3, распознаваемый АВТМ3-hum21, определяли с использованием исследований на основе рентгеновской кристаллографии. АВТМ3-hum21 отличается только одной аминокислотой в CDR2 тяжелой цепи от других гуманизированных антител против TIM3, описанных в настоящем описании, и эта отличающаяся аминокислота (Gln55) расположена далеко ($>6\text{\AA}$) от эпитопа и, таким образом, нельзя ожидать, что она изменяет связывание антигена. Проводили два различных конкурентных анализа для сравнения связывания эпитопов между АВТМ3-hum21 и двумя другими гуманизированными антителами против TIM3, АВТМ3-hum03 и АВТМ3-hum11. Результаты обоих конкурентных анализов показали, что как АВТМ3-hum04, так и АВТМ3-hum11 эффективно конкурируют с АВТМ3-hum03 за связывание с TIM3, таким образом демонстрируя, что АВТМ3-hum03 и АВТМ3-hum11 также связываются с эпитопом, сходным с АВТМ3-hum21, например эпитопом, как описано в настоящем описании.

11.1. Проточно-цитометрический конкурентный анализ

K_D АВТМ3-hum21 определяли посредством мечения АВТМ3-hum21 фикоэритрином, инкубации с экспрессирующими hTIM-3 клетками 300.19 и строили кривую связывания для определения K_D , составившей 2,15.

Титрованные концентрации немеченного hIgG1 (изотипический контроль), АВТМ3-hum21 (поло-

жительный контроль), АВТИМ3-hum11 или АВТИМ3-hum03 смешивали с АВТИМ3-hum21 при его K_D и инкубировали с экспрессирующими hTIM-3 клетками 300.19 при 4°C в течение 3 ч. Клетки промывали два раза и анализировали на проточном цитометре LSRFortessa. Данные анализировали в FlowJo и величины MFI (PE) наносили на график и графически представляли с помощью программного обеспечения GraphPad (Prism). Эксперимент проводили два раза.

Результаты конкурентного анализа демонстрируют, что как АВТИМ3-hum11, так и АВТИМ3-hum03 (но не изотипический контроль) конкурировали с АВТИМ3-hum21 за связывание с TIM3 человека, экспрессируемым на клетках 300.19 (фиг. 20). Из кривых связывания вычисляли K_D для АВТИМ3-hum11 и АВТИМ3-hum03; вычисленная K_D для АВТИМ3-hum11 составляла 2,276 нМ и вычисленная K_D для АВТИМ3-hum03 составляла 2,413 нМ. Эти результаты демонстрируют, что АВТИМ3-hum11 и АВТИМ3-hum03 связываются со сходным или тем же эпитопом, что и АВТИМ3-hum21. 11.2

Конкурентный анализ Вiasoge

Антиген hTIM-3/his улавливали с использованием иммобилизованного антитела против His (RU10000) на чипе CM5. Первое антитело инжестрировали до достижения насыщения (>90%). Второе антитело инжестрировали для оценки того, происходит ли второе событие связывания. Возникновение второго события связывания указывает на то, что два исследованных антитела имеют различные эпитопы. Отсутствие второго события связывания указывает на то, что два антитела могут распознавать и связываться с одним и тем же эпитопом. Контрольные анализы проводили так, что исследуемое антитело анализировали с изотипическим контрольным IgG1 человека или исследуемое антитело анализировали в качестве первого и второго антитела (например, цикл собственное-собственное) для наблюдения исходного уровня события связывания. В табл. 14 обобщенно представлены проанализированные циклы Вiasoge и показано, какие антитела использовали в качестве первого и второго антител в каждом цикле.

Таблица 14. Обобщение циклов конкурентного анализа Вiasoge.

Циклы	1-ое антитело	2-ое антитело
1	huIgG1	huIgG1
2	huIgG1	АВТИМ3-hum21
3	huIgG1	АВТИМ3-hum03
4	huIgG1	АВТИМ3-hum11
5	АВТИМ3-hum21	huIgG1
6	АВТИМ3-hum21	АВТИМ3-hum21
7	АВТИМ3-hum21	АВТИМ3-hum03
8	АВТИМ3-hum21	АВТИМ3-hum11
9	АВТИМ3-hum03	huIgG1
10	АВТИМ3-hum03	АВТИМ3-hum21
11	АВТИМ3-hum03	АВТИМ3-hum03
12	АВТИМ3-hum03	АВТИМ3-hum11
13	АВТИМ3-hum11	huIgG1
14	АВТИМ3-hum11	АВТИМ3-hum21
15	АВТИМ3-hum11	АВТИМ3-hum03
16	АВТИМ3-hum11	АВТИМ3-hum11

Обнаружение исходного уровня и первого и второго событий связывания регистрируют в качестве RU (резонансные единицы), и это может быть представлено на сенсограмме. Типичная сенсограмма показана на фиг. 21, где событие связывания показано после инжестрирования 1-го антитела. После промывания инжестрируют второе антитело, и можно выявлять второе связывание. Значительные изменения RU указывают на событие связывания. Обобщение изменений RU, обнаруженных при инжестрировании 1-го и 2-го антител в конкурентном анализе связывания Вiasoge, представлено в табл. 15.

Таблица 15. Обобщение результатов конкурентного анализа Вiasoge.

Инъектирование 1-го антитела		Инъектирование 2-го антитела			
		huIgG1	АВТИМ3-hum21	АВТИМ3-hum03	АВТИМ3-hum11
huIgG1	0,27	3,6	88,2	86,3	83,2
АВТИМ3-hum21	95,85	4,5	6,6	7,6	8,1
АВТИМ3-hum03	93,33	4,5	6,9	7,3	8,5
АВТИМ3-hum11	93,48	3,8	NA ¹	5,3	7,2

¹Из сенсограммы величина не была вычислена вследствие неизвестной проблемы с жидкостью.

Результаты, показанные выше, демонстрируют, что инъектирование АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum03 и АВТИМ3-hum11 в ходе инъектирования первого антитела приводит к событию связывания. Инъектирование АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum03, и АВТИМ3-hum11 в качестве второго антитела после инъектирования контрольного антитела IgG1 человека приводит ко второму событию связывания. Однако инъектирование любых из антител против ТИМ3, исследованных здесь, в качестве первого и второго антител, не привело к второму событию связывания, что демонстрирует, что для каждой пары из 1-го и 2-го исследованных антител происходила конкуренция за связывание с тем же эпитопом ТИМ3. Эти результаты показывают, что АВТИМ3-hum21, АВТИМ3-hum03 и АВТИМ3-hum11 связываются со сходным или тем же эпитопом на ТИМ3 человека.

Пример 12. Фармакокинетические свойства АВТИМ3-hum11.

Различные фармакокинетические свойства АВТИМ3-hum11 оценивали в моделях на мышах и крысах. АВТИМ3-hum11 инъецировали внутривенно мышам в различных дозах: 1 мг/кг, 3 мг/кг и 10 мг/кг. Образцы крови получали в различные моменты времени между 0 и 672 часами (0-28 суток). 10 мг/кг АВТИМ3-hum11 инъецировали внутривенно крысам и образцы крови получали в различные моменты времени в диапазоне 0-400 часов (0-16 суток). Определяли концентрацию АВТИМ3-hum11, присутствующего в сыворотке (фиг. 23А и 23В). Результаты показали, что АВТИМ3-hum11 является стабильным в сыворотке как мыши, так и крысы. В табл. 16 показаны дополнительные определенные фармакокинетические свойства, включая время полужизни (T_{1/2}), максимальную сывороточную концентрацию (C_{max}), АUC вплоть до последней подающейся измерению концентрации (AUC_{last}) и АUC при экстраполяции на бесконечность (AUC_{inf}).

Таблица 16. Обобщение фармакокинетических свойств АВТИМ3-hum11.

Вид	Доза (мг/кг)		T _{1/2} (ч)	C _{max} (мкг/мл)	AUC _{last} (ч*мкг/мл)	AUC _{inf} (ч*мкг/мл)
Мышь	1	N	3	3	3	3
		Среднее значение	142,3	17,3	1507,8	1571,4
		STD	96,9	0,7	337,9	439,5
	3	N	3	3	3	3
		Среднее значение	266,1	37,2	4617,9	5369,0
		STD	73,1	2,3	2109,8	2496,1
	10	N	3	3	3	3
		Среднее значение	254,9	147,5	23906,5	28621,7
	STD	39,2	13,2	4369,8	6314,1	
Крыса	10	N	3	3	3	3
		Среднее значение	400,8	243,4	26032,3	53767,1
		STD	75,9	19,1	895,8	5362,6

В исследовании токсичности трем наивным мышам вводили однократную дозу 1 мг/кг, 3 мг/кг или 10 мг/кг АВТИМ3-hum11 посредством внутривенной инъекции. Через 28 дней не наблюдали неблагоприятных эффектов, что указывает на то, что АВТИМ3 антитело является переносимым в моделях на мышах.

Включение в качестве ссылки

Все публикации, патенты и номера доступа, упомянутые в настоящем описании, включены в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме, как если бы было конкретно или индивидуально указано, что каждая индивидуальная публикация или патент включены в качестве ссылок.

Эквиваленты

Хотя были рассмотрены конкретные варианты осуществления композиций и способов, описанных в настоящем описании, представленное выше описание является иллюстративным, но не ограничивающим. Многие варианты изобретения станут очевидными специалистам в данной области при изучении

этого описания и формулы изобретения, представленной ниже. Полный объем изобретения должен определяться пунктами формулы определения, а также их полным объемом эквивалентов и описанием, а также такими вариантами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенная молекула антитела, способная связываться с Т-клеточным иммуноглобулиновым доменом и доменом муцина 3 (TIM-3) человека, содержащая:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 10 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 25 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 24 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 31 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 30 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8.

2. Молекула антитела по п.1, где указанная молекула антитела представляет собой моноспецифическую молекулу антитела.

3. Выделенная биспецифическая молекула антитела, способная связываться с Т-клеточным иммуноглобулиновым доменом и доменом муцина 3 (TIM-3) человека, содержащая:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 10 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 4 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 25 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 24 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO:

6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 31 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 30 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8.

4. Биспецифическая молекула антитела по п.3, где указанная молекула антитела обладает первой специфичностью связывания в отношении TIM-3 и второй специфичностью связывания в отношении PD-1, LAG-3, CEACAM-1, CEACAM-5, PD-L1 или PD-L2.

5. Молекула антитела по любому из пп.1-4, где указанная молекула антитела представляет собой гуманизованную молекулу антитела.

6. Молекула антитела по любому из пп.1-5, где указанная молекула антитела содержит антигенсвязывающий фрагмент антитела, или половинное антитело, или антигенсвязывающий фрагмент половинного антитела.

7. Молекула антитела по любому из пп.1-6, которая представляет собой Fab, F(ab')₂, Fv или одноцепочечный Fv-фрагмент (scFv).

8. Молекула антитела по любому из пп.1-7, где молекула антитела содержит константную область тяжелой цепи, выбранную из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, и/или константную область легкой цепи, выбранную из константных областей каппа или ламбда.

9. Молекула антитела по любому из пп.1-8, которая содержит:

VH, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1, 16, 26, 32, 36, 44, 48, 52, 60, 68, 72, 76, 80, 84, 92 или 100, или аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную любой из SEQ ID NO: 1, 16, 26, 32, 36, 44, 48, 52, 60, 68, 72, 76, 80, 84, 92 или 100, и/или

VL, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 2, 20, 40, 56, 64, 88, 96 или 104, или аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 85% идентичную любой из SEQ ID NO: 2, 20, 40, 56, 64, 88, 96 или 104.

10. Молекула антитела по любому из пп.1-9, которая содержит:

VH, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1, 16, 26, 32, 36, 44, 48, 52, 60, 68, 72, 76, 80, 84, 92 или 100, и/или

VL, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 2, 20, 40, 56, 64, 88, 96 или 104.

11. Молекула антитела по любому из пп.1-10, которая содержит:

тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 18, 121, 28, 34, 38, 116, 46, 50, 54, 62, 70, 74, 78, 82, 86, 94 или 102, и/или

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 22, 42, 58, 66, 90, 98 или 106.

12. Молекула антитела по любому из пп.1-10, которая содержит:

(a) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2,

(b) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20,

(c) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 26, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20,

(d) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20,

(e) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40,

(f) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 44, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40,

(g) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 48, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40,

(h) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20,

(i) VH, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16, и VL, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 40,

цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58,

(q) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58,

(r) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 74, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 58,

(s) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66,

(t) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 82, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66,

(u) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 90,

(v) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 98, или

(w) тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 106.

14. Молекула антитела по любому из пп.1-13, которая содержит:

(a) константную область тяжелой цепи IgG4 человека с мутацией в положении 228 в соответствии с нумерацией EU или в положении 108 SEQ ID NO: 108 или 110 и константную область легкой цепи каппа;

(b) константную область тяжелой цепи IgG4 человека с мутацией серина на пролин в положении 228 в соответствии с нумерацией EU или в положении 108 SEQ ID NO: 108 или 110 и константную область легкой цепи каппа;

(c) константную область тяжелой цепи IgG1 человека с мутацией аспарагина на аланин в положении 297 в соответствии с нумерацией EU или в положении 180 SEQ ID NO: 112 и константную область легкой цепи каппа;

(d) константную область тяжелой цепи IgG1 человека с мутацией аспартата на аланин в положении 265 в соответствии с нумерацией EU или в положении 148 SEQ ID NO: 113 и мутацией пролина на аланин в положении 329 в соответствии с нумерацией EU или в положении 212 SEQ ID NO: 113 и константную область легкой цепи каппа; или

(e) константную область тяжелой цепи IgG1 человека с мутацией лейцина на аланин в положении 234 в соответствии с нумерацией EU или в положении 117 SEQ ID NO: 114 и мутацией лейцина на аланин в положении 235 в соответствии с нумерацией EU или в положении 118 SEQ ID NO: 114 и константную область легкой цепи каппа.

15. Молекула антитела по любому из пп.1-14, которая имеет одно, два, три или все из следующих свойств:

(a) способна связываться с TIM-3 с константой диссоциации (KD) менее чем приблизительно 0,5 нМ;

(b) способна снижать:

(i) связывание TIM-3 с фосфатидилсерином (PtdSer), HMGB1, CEACAM-1, семафорином 4-A или их комбинацией; или

(ii) опосредуемое PtdSer проникновение TIM-3 через мембрану;

(c) способна усиливать ответ антигенспецифических Т-клеток; или

(d) связывает IgV-домен TIM-3.

16. Выделенная молекула антитела, которая связывается с тем же эпитопом, что и, или эпитопом, который перекрывается с эпитопом моноклонального антитела на Т-клеточном иммуноглобулиновом домене и домене муцина 3 (TIM-3) человека, где моноклональное антитело содержит:

(a) вариабельную область тяжелой цепи (VH), содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 10 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и вариабельную область легкой цепи (VL), содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14;

(b) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 4; и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8;

(c) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 25 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14;

(d) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3;

аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 24 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8;

(e) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 9; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 31 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 12, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 13 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 14; или

(f) VH, содержащую аминокислотную последовательность VHCDR1, выбранную из SEQ ID NO: 3; аминокислотную последовательность VHCDR2 SEQ ID NO: 30 и аминокислотную последовательность VHCDR3 SEQ ID NO: 5; и VL, содержащую аминокислотную последовательность VLCDR1 SEQ ID NO: 6, аминокислотную последовательность VLCDR2 SEQ ID NO: 7 и аминокислотную последовательность VLCDR3 SEQ ID NO: 8, где

(1) молекула антитела связывается с одним, двумя, тремя или всеми из: двух остатков, соседних с N-концом А-цепи (Val24 и Glu25 в TIM-3 человека), петли BC, петли CC' или G-цепи TIM-3 человека; и

(2) молекула антитела имеет одно, два, три, четыре, пять или все из следующих свойств:

(i) снижает зависимость от PtdSer проникновение TIM-3 через мембрану;

(ii) снижает связывание TIM-3 с одним, двумя или всеми из PtdSer, HMGB1 или CEACAM-1;

(iii) конкурирует с CEACAM-1 за связывание с одним, двумя или всеми из Cys58, Asn119 и Lys122 TIM-3;

(iv) снижает образование водородных связей между Lys122 TIM-3 и Asn42 CEACAM-1;

(v) конкурирует с PtdSer за связывание с петлей FG и петлей CC' TIM-3; или

(vi) конкурирует с HMGB1 за связывание с Glu62 TIM-3.

17. Молекула антитела по п.16, где молекула антитела связывается с одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью, семью, восемью или всеми из следующих:

(a) один, два, три или все из: двух остатков, соседних с N-концом А-цепи (Val24 и Glu25 в TIM-3 человека), петли BC, петли CC' или G-цепи TIM-3 человека;

(b) один, два, три или все из: А-цепи, петли EF, F-цепи или петли FG;

(c) один, два, три или все из: третьего остатка с N-конца А-цепи (Glu23 в TIM-3 человека), цепи C, петли C'C'' или C''-цепи;

(d) один или оба из остатков Val24 и Glu25, соседних с N-концом А-цепи; остатка Thr41 в петле BC; четыре, пять, шесть, семь или все из остатков Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 и Val128 в G-цепи; и три, четыре, пять или все из остатков Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60 и Phe61 в петле CC'';

(e) остатки Val24 и Glu25, соседние с N-концом А-цепи; остаток Thr41 в петле BC; остатки Glu121, Lys122, Phe123, Asn124, Leu125, Lys126, Leu127 и Val128 в G-цепи и остатки Gly56, Ala57, Cys58, Pro59, Val60 и Phe61 в петле CC'';

(f) один или несколько остатков, выбранных из: остатка Tyr26 в А-цепи, остатков Phe39 и Tyr40 в петле BC; остатка Ser105 в EF петле; остатков Gly106 и Ile107 в F-цепи; и остатки Asn119 и Asp120 в петле FG;

(g) остаток Tyr26 в А-цепи, остатки Phe39 и Tyr40 в петле BC; остаток Ser105 в петле EF; остатки Gly106 и Ile107 в F-цепи и остатки Asn119 и Asp120 в петле FG;

(h) один или несколько остатков, выбранных из: остатка Glu23, являющегося N-концевым остатком А-цепи; остатков Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49 и Pro50 в петле BC; остатков Val51, Cys52, Trp53, Gly54 и Lys55 в С-цепи; остатков Arg73 и Asp74 в петле C'C' и остатков Val75, Asn76 и Tyr77 в C''-цепи; и/или

(i) остаток Glu23, являющийся N-концевым остатком А-цепи; остатки Pro42, Ala43, Ala44, Pro45, Gly46, Asn47, Leu48, Val49 и Pro50 в петле BC; остатки Val51, Cys52, Trp53, Gly54 и Lys55 в петле C; остатки Arg73 и Asp74 в C'C''-цепи; и остатки Val75, Asn76 и Tyr77 в C''-цепи.

18. Фармацевтическая композиция для стимуляции иммунного ответа у индивидуума, содержащая выделенную молекулу антитела по любому из пп.1-17 и фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент или стабилизатор.

19. Фармацевтическая композиция для лечения злокачественной опухоли у индивидуума, содержащая выделенную молекулу антитела по любому из пп.1-17 и фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент или стабилизатор.

20. Фармацевтическая композиция для лечения инфекционного заболевания у индивидуума, содержащая выделенную молекулу антитела по любому из пп.1-17 и фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент или стабилизатор.

21. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая варибельную область тяжелой и легкой цепи молекулы антитела по любому из пп.1-17.

22. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая молекулу антитела, содержащую CDR 1-3 тяже-

лой цепи и CDR 1-3 легкой цепи молекулы антитела по любому из пп.1-17.

23. Нуклеиновая кислота по п.22, содержащая:

нуклеотидную последовательность, кодирующую VH, где указанная нуклеотидная последовательность содержит любую из SEQ ID NO: 11, 17, 29, 33, 37, 45, 49, 53, 61, 69, 73, 77, 81, 85, 93, 101, 115 или 120, или по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 11, 17, 29, 33, 37, 45, 49, 53, 61, 69, 73, 77, 81, 85, 93, 101, 115 или 120, и/или

нуклеотидную последовательность, кодирующую VL, где указанная нуклеотидная последовательность содержит любую из SEQ ID NO: 15, 21, 41, 57, 65, 89, 97, 105, 118, 123, 125 или 127, или по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 15, 21, 41, 57, 65, 89, 97, 105, 118, 123, 125 или 127.

24. Нуклеиновая кислота по п.22, содержащая:

нуклеотидную последовательность, кодирующую тяжелую цепь, где указанная нуклеотидная последовательность содержит любую из SEQ ID NO: 19, 29, 35, 39, 47, 51, 55, 63, 71, 75, 79, 83, 87, 95, 103, 117 или 122, или по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 19, 29, 35, 39, 47, 51, 55, 63, 71, 75, 79, 83, 87, 95, 103, 117 или 122; и/или

нуклеотидную последовательность, кодирующую легкую цепь, где указанная нуклеотидная последовательность содержит любую из SEQ ID NO: 23, 43, 59, 67, 91, 99, 107, 119, 124, 126, 128, или по меньшей мере на 85% идентична любой из SEQ ID NO: 23, 43, 59, 67, 91, 99, 107, 119, 124, 126, 128.

25. Экспрессирующий вектор, содержащий нуклеиновую кислоту по любому из пп.21-24.

26. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту по любому из пп.21-24, для получения молекулы антитела по любому из пп.1-17.

27. Способ получения молекулы антитела или ее фрагмента, включающий культивирование клетки-хозяина по п.26 в условиях, пригодных для экспрессии генов.

28. Способ обнаружения ТИМ-3 в биологическом образце, включающий (i) приведение в контакт образца с выделенной молекулой антитела по любому из пп.1-17 в условиях, которые позволяют взаимодействие молекулы антитела и полипептида, и (ii) обнаружение образования комплекса между молекулой антитела и образцом.

29. Способ по п.28, дополнительно включающий (iii) приведение в контакт эталонного образца с выделенной молекулой антитела по любому из пп.1-17 в условиях, которые позволяют взаимодействие молекулы антитела и полипептида, и (ii) обнаружение образования комплекса между молекулой антитела и эталонным образцом.

30. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-17 для стимуляции иммунного ответа у индивидуума.

31. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-17 для лечения злокачественной опухоли у индивидуума.

32. Применение молекулы антитела по любому из пп.1-17 для лечения инфекционного заболевания у индивидуума.

33. Применение по п.31, где злокачественной опухолью является рак легкого, меланома, рак почки, рак печени, рак предстательной железы, рак молочной железы, рак головы и шеи, рак ободочной и прямой кишки, рак поджелудочной железы, рак головного мозга, гематологическая злокачественная опухоль или метастатический очаг злокачественной опухоли.

34. Применение по п.33, в котором

(a) раком легкого является немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), аденокарцинома легкого, плоскоклеточная карцинома легкого или мелкоклеточный рак легкого;

(b) меланомой является развернутая меланома, нерезектабельная меланома, метастазирующая меланома, меланома с мутацией BRAF, меланома с мутацией NRAS, кожная меланома или внутриглазная меланома;

(c) раком почки является почечно-клеточная карцинома (RCC), метастазирующая почечно-клеточная карцинома, светлоклеточная почечно-клеточная карцинома (CCRCC), светлоклеточная карцинома почки или карцинома папиллярных клеток почки; или

(d) гематологической злокачественной опухолью является лимфома, неходжкинская лимфома, миелома или лейкоз.

35. Применение по любому из пп.30-34, где применение дополнительно включает применение второго терапевтического средства, где второе терапевтическое средство представляет собой одно или несколько из химиотерапии, направленной терапии злокачественной опухоли, онколитического лекарственного средства, цитотоксического средства, терапии на иммунной основе, цитокина, хирургической операции, лучевой процедуры, активатора костимулирующей молекулы, ингибитора ингибиторной молекулы, вакцины или клеточной иммунотерапии.

36. Применение по любому из пп.30-35, отличающееся тем, что применение дополнительно включает применение:

(a) агониста костимулирующей молекулы, выбранной из одной или нескольких из OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 или лиганда CD83; или

(b) ингибитора молекулы иммунной точки контроля, выбранной из одного или нескольких из PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, CEACAM-1, CEACAM-5, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 или TGFR.

37. Применение по любому из пп.30-36, отличающееся тем, что применение дополнительно включает применение одного или более из следующего:

- (a) ингибитора PD-1;
- (b) ингибитора PD-L1;
- (c) ингибитора LAG-3;
- (d) агониста GITR;
- (e) химиотерапии для лечения рака легкого;
- (f) ингибитора индоламинпиррол-2,3-диоксигеназы (IDO) для лечения рака легкого;
- (g) ингибитора CTLA-4 для лечения рака легкого или меланомы;
- (h) ингибитора MEK для лечения рака легкого, меланомы или рака почки;
- (i) вакцины против злокачественной опухоли;
- (j) одного или нескольких из:
 - (i) иммунной терапии;
 - (ii) направленного средства;
 - (iii) ингибитора тирозинкиназы VEGF;
 - (iv) ингибитора РНК-и; или
 - (v) ингибитора нижеследующего медиатора передачи сигнала VEGF для лечения рака почки;
 - (k) одного, двух или всех из оксалиплатина, лейковорина или 5-FU для лечения рака легкого, меланомы или рака почки; или
 - (l) ингибитора тирозинкиназы для лечения рака почки.

38. Применение по п.37, в котором один или более из следующих:

- (a) ингибитор PD-1, которым является молекула антитела против PD-1 или является MDX-1106, Merck 3475, CT-011, AMP-224 или AMP-514;
- (b) ингибитор PD-L1, которым является молекула антитела против PD-L1 или является YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C или MDX-1105;
- (c) ингибитор LAG-3, которым является молекула антитела против LAG-3;
- (d) агонист GITR, которым является молекула антитела против GITR;
- (e) химиотерапия, которой является терапия платиновыми дублетами;
- (f) ингибитор индоламинпиррол-2,3-диоксигеназы (IDO), которым является INCB24360;
- (g) ингибитор CTLA-4, которым является молекула антитела против CTLA-4, где молекула антитела против CTLA-4 представляет собой ипимумаб, или растворимый лиганд CTLA-4, где молекулу антитела или фармацевтическую композицию используют в комбинации с ингибитором BRAF, где ингибитор BRAF представляет собой вемурафениб или дабрафениб;
- (h) ингибитор MEK для лечения рака легкого, меланомы или рака почки;
- (i) вакцина против злокачественной опухоли, которой является вакцина на основе дендритных клеток;
- (j) одно или несколько из:
 - (i) иммунная терапия, которой является интерлейкин-2 или интерферон- α ;
 - (ii) направленное средство, которым является ингибитор VEGF, где ингибитор VEGF представляет собой молекулу антитела против VEGF;
 - (iii) ингибитор тирозинкиназы VEGF, которым является сунитиниб, сорафениб, акситиниб или пазопаниб;
 - (iv) ингибитор РНК-и; или
 - (v) ингибитор нижеследующего медиатора передачи сигнала VEGF, которым является ингибитор мишени рапамицина (mTOR) у млекопитающих, где ингибитор mTOR представляет собой эверолимус или темсирулимус;
 - (k) один, два или все из оксалиплатина, лейковорина или 5-FU для лечения рака легкого, меланомы или рака почки; или
 - (l) ингибитор тирозинкиназы, представляющий собой акситиниб.

39. Применение по любому из пп.30-38, где индивидуум имеет или идентифицирован как имеющий одно или более из:

- (a) злокачественной опухоли, которая экспрессирует TIM-3;
- (b) злокачественной опухоли, которая является положительной по одному, двум или всем из PD-L1, CD8 или IFN- γ ;
- (c) злокачественной опухоли, которая является тройной положительной по PD-L1, CD8 и IFN- γ ; или
- (d) злокачественной опухоли, которая является положительной по инфильтрирующим опухоль лимфоцитам (TIL).

40. Применение по любому из пп.30-39, где молекула антитела предназначена для применения в до-

зе приблизительно от 1 до 30 мг/кг или от 1 до 5 мг/кг.

41. Применение по любому из пп.30-40, где молекула антитела предназначена для применения от одного раза в неделю до одного раза в 2, 3 или 4 недели.

42. Применение по любому из пп.30-39, где молекула антитела предназначена для применения в дозе от приблизительно 10 до 20 мг/кг раз в две недели.

43. Применение по любому из пп.30-42, где молекулу антитела используют в комбинации с одним или несколькими из следующего: 1) ингибитором протеинкиназы C (PKC); 2) ингибитором белка теплового шока 90 (HSP90); 3) ингибитором фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и/или мишени рапамицина (mTOR); 4) ингибитором цитохрома P450 (например, ингибитором CYP17 или ингибитором 17-альфа-гидроксилазы/C17-20-лиазы); 5) хелатирующим железом агентом; 6) ингибитором ароматазы; 7) ингибитором p53, например ингибитором взаимодействия p53/Mdm2; 8) индуктором апоптоза; 9) ингибитором ангиогенеза; 10) ингибитором альдостеронсинтазы; 11) ингибитором рецептора smoothed (SMO); 12) ингибитором рецептора пролактина (PRLR); 13) ингибитором передачи сигнала Wnt; 14) ингибитором CDK4/6; 15) ингибитором фибробластного фактора роста рецептор 2 (FGFR2)/фибробластного фактора роста рецептор 4 (FGFR4); 16) ингибитором макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF); 17) ингибитором одного или нескольких из c-KIT, высвобождения гистамина, Flt3 (например, FLK2/STK1) или PKC; 18) ингибитором одного или нескольких из VEGFR-2 (например, FLK-1/KDR), PDGFR-бета, c-KIT или Raf-киназы C; 19) агонистом соматостатина и/или ингибитором высвобождения гормона роста; 20) ингибитором киназы анапластической лимфомы (ALK); 21) ингибитором рецептора инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1R); 22) ингибитором Р-гликопротеина 1; 23) ингибитором рецептора сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGFR); 24) ингибитором киназы BCR-ABL; 25) ингибитором FGFR; 26) ингибитором CYP11B2; 27) ингибитором HDM2, например ингибитором взаимодействия HDM2-p53; 28) ингибитором тирозинкиназы; 29) ингибитором c-MET; 30) ингибитором JAK; 31) ингибитором DAC; 32) ингибитором 11 β -гидроксилазы; 33) ингибитором IAP; 34) ингибитором PIM-киназы; 35) ингибитором поркупина; 36) ингибитором BRAF, например V600E BRAF или BRAF дикого типа; 37) ингибитором HER3; 38) ингибитором MEK; или 39) ингибитором киназы липидов.

44. Применение по любому из пп.30-43, где молекулу антитела используют в комбинации с одним или несколькими из соединений A1-A51, как описано в табл. 6.

45. Применение по любому из пп.30-44, где молекулу антитела используют в комбинации с азаци-тидином и/или децитабином.

46. Применение по п.45, где молекулу антитела использует для лечения острого миелоидного лейкоза (AML) или миелодиспластического синдрома (MDS).

47. Молекула антитела, способная связываться с TIM-3 человека, содержащая VH, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и VL, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64.

48. Молекула антитела, способная связываться с TIM-3 человека, содержащая VH, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, и VL, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20.

49. Молекула антитела, способная связываться с TIM-3 человека, содержащая тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66.

50. Молекула антитела, способная связываться с TIM-3 человека, содержащая тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22.

51. Применение молекулы антитела, способной связываться с TIM-3, включающей VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 52, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 64, для лечения злокачественной опухоли у индивидуума.

52. Применение молекулы антитела, способной связываться с TIM-3, включающей VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20, для лечения злокачественной опухоли у индивидуума.

53. Применение молекулы антитела, способной связываться с TIM-3, включающей VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 66, для лечения злокачественной опухоли у индивидуума.

54. Применение молекулы антитела, способной связываться с TIM-3, включающей VH, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34, и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, для лечения злокачественной опухоли у индивидуума.

Последовательность варибельной области антитела мыши АВТИМ3

Тяжелая цепь (118 а.к.; SEQ ID NO: 1)

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYNMFNIKQT PGQGLEWIGD IYPNGDTSY
NQKFKGKATL TADKSSSTVY MQLSSLTSED SAVYYCARVG GAFPMDTWGQ GTSVTVSS

Легкая цепь (118 а.к.; SEQ ID NO: 2)

DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVE YYGTSLMCMY QQKPGQPPKL LIYVASNVES
 GVPARFSGSG SGTDFSLNIH PVEEDDIAIY FCSQSRKDPS TFGGGTKLEI K

Фиг. 1А

Выравнивание последовательности антитела мыши АВТИМ3 против последовательностей антител мыши эмбрионального типа

Тяжелая цепь (118 а.к.)

V-ген: идентичность 94,1% (271/288 nt) с IGHV1-12*01F

J-ген: на 90,57% идентичен (48/53 nt) IGHJ4*01F

Всего 10 аминокислотных отличий

АВТИМ3 QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYNMFNIKQT PGQGLEWIGD IYPNGDTSY
 G1 -AY---S--- --R----- ----- ------V--- -R----- A-----

АВТИМ3 NQKFKGKATL TADKSSSTVY MQLSSLTSED SAVYYCARVG GAFPMDTWGQ GTSVTVSS
 G1 ---------- -V-----A----- ----- -F----

Легкая цепь (118 а.к.)

V-ген: на 99,66% идентичен (290/291 nt) IGKV3-1*01F

J-ген: идентичность 97,06% с IGKJ1*01F

Всего 2 аминокислотных отличия

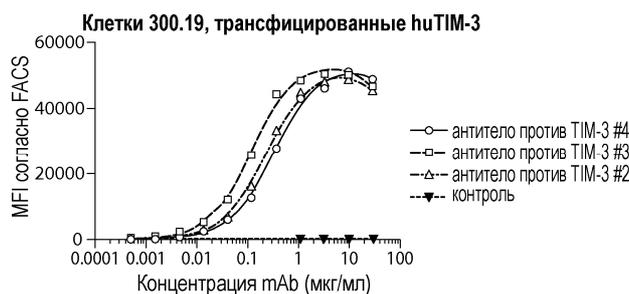
АВТИМ3 DIVLTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVE YYGTSLMCMY QQKPGQPPKL LIYVASNVES
 g1 ----- ---------- -----

АВТИМ3 GVPARFSGSG SGTDFSLNIH PVEEDDIAIY FCSQSRKDPS TFGGGTKLEI K
 G1 ----- -----M----- -----V----------

Фиг. 1В

	ВIAcore K _D (нМ)	ТИМ-3-300.19 K _D (нМ)	Клетка яван- ского макака K _D (нМ)
Антитело про- тив ТИМ-3 #2	0.459	1.57	7.4
АВТИМ3	0.042	0.16	0.68

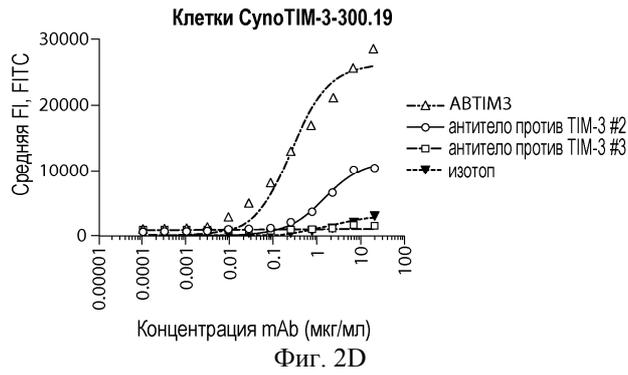
Фиг. 2А



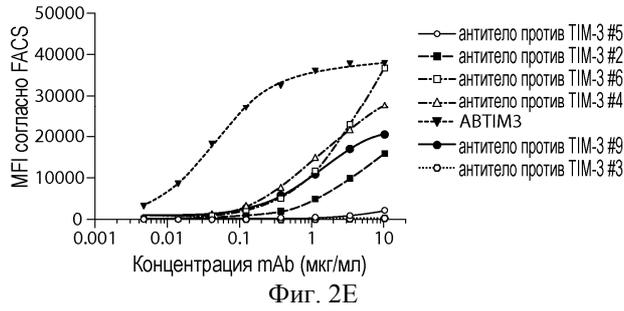
Фиг. 2В



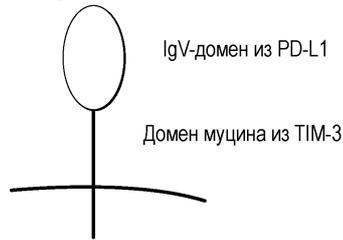
Фиг. 2С



Связывание мАв против ТІМ-3 с клетками 300.19, трансфицированными СуноТІМ-3

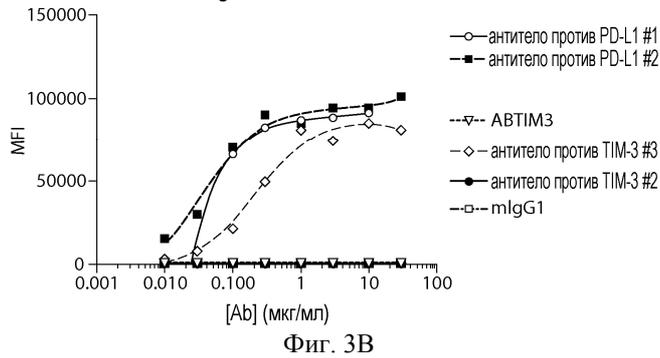


Исследование связывания с химерным белком

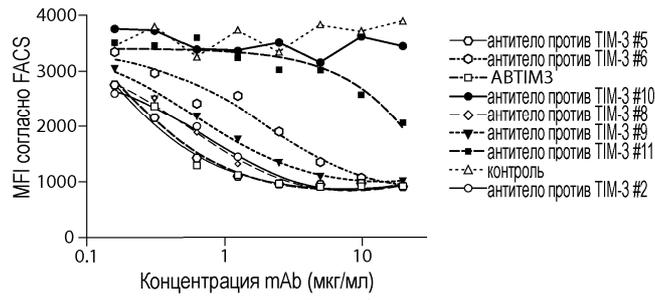


Фиг. 3А

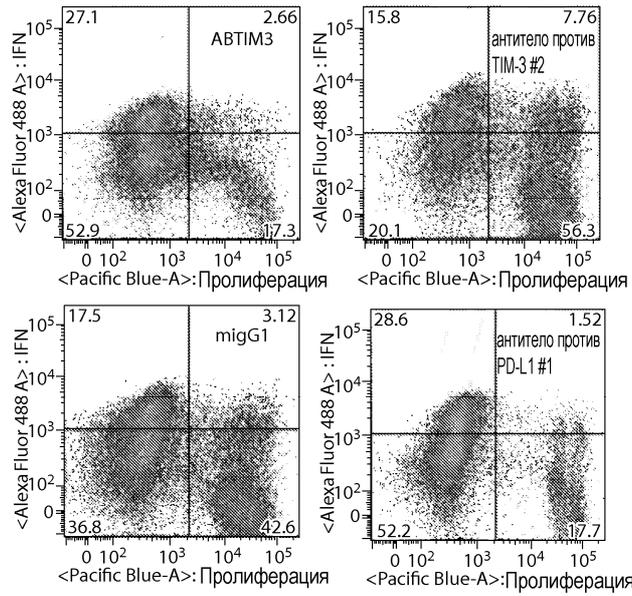
Связывание с трансфектантами PD-L1IgVТІМ-3тисин 300.19



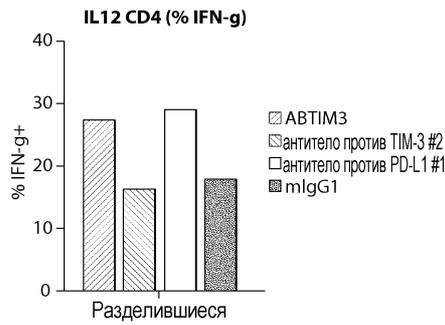
Ингибирование связывания TIM-3-Ig с апоптотическими клетками



Фиг. 4

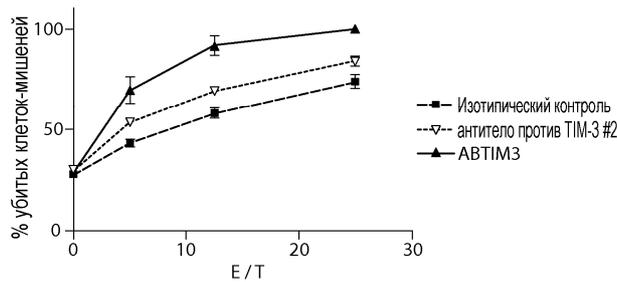


Фиг. 5А



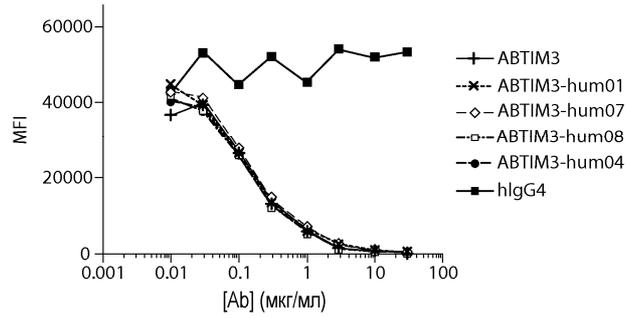
Фиг. 5В

Эффект на уничтожение клеток k562 очищенными НК-клетками



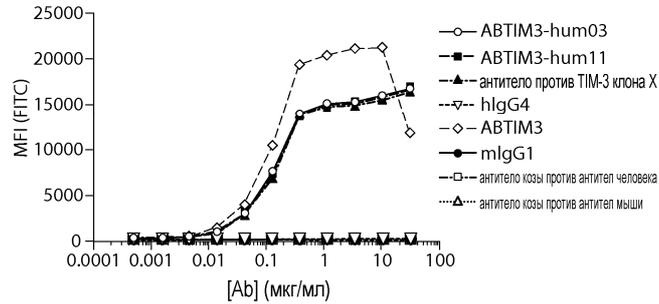
Фиг. 6

Конкурентное связывание в FACS



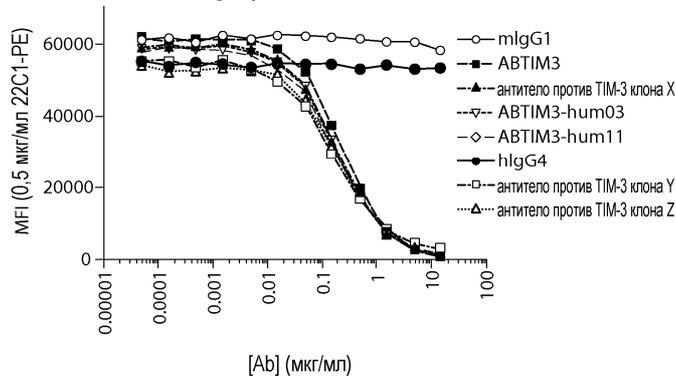
Фиг. 7

Связывание 300.19 huTIM3: Ab против hTIM3, измеренное с использованием вторичного Ab-FITC

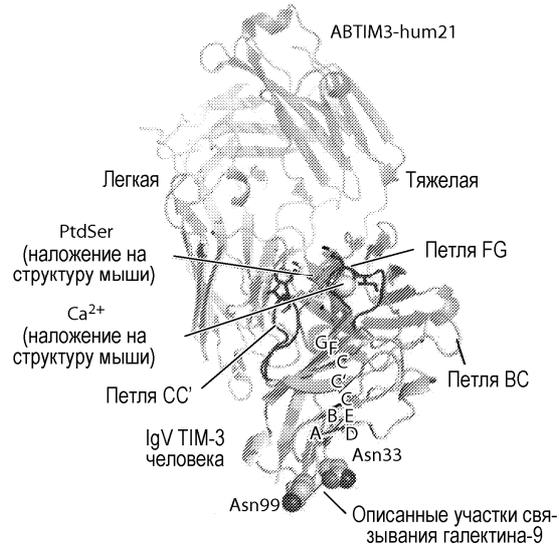


Фиг. 8A

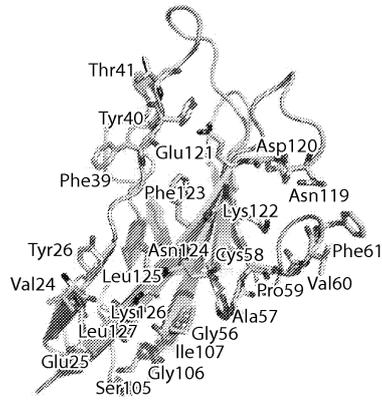
Конкурентное связывание 300.19 hTIM3: Ab против hTIM3 в присутствии ABTIM3



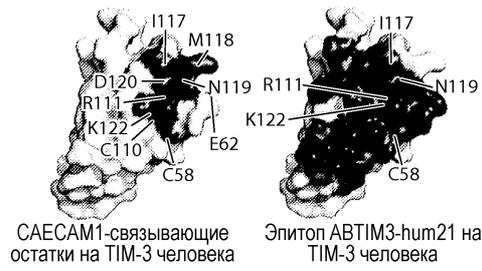
Фиг. 8B



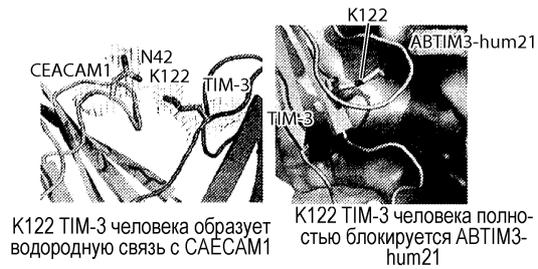
Фиг. 9А



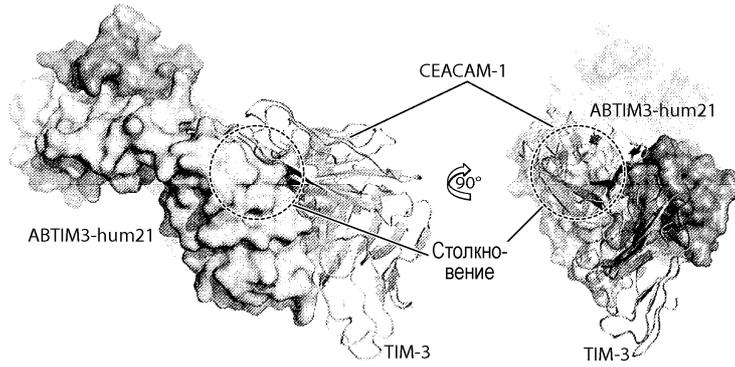
Фиг. 9В



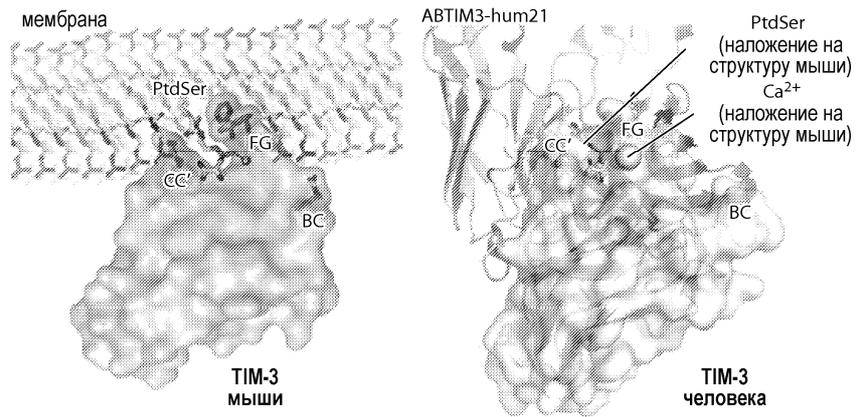
Фиг. 10А



Фиг. 10В

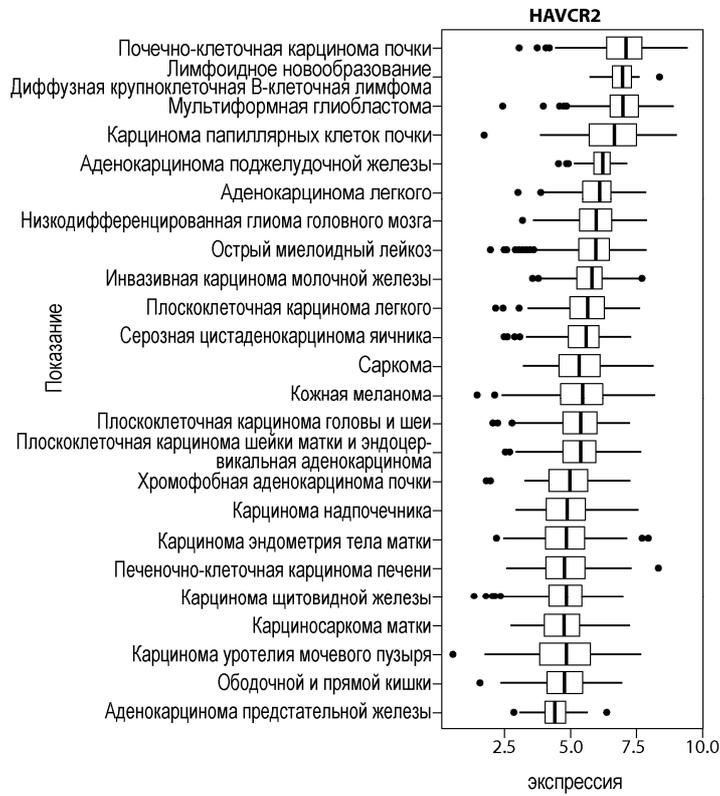


Фиг. 10С

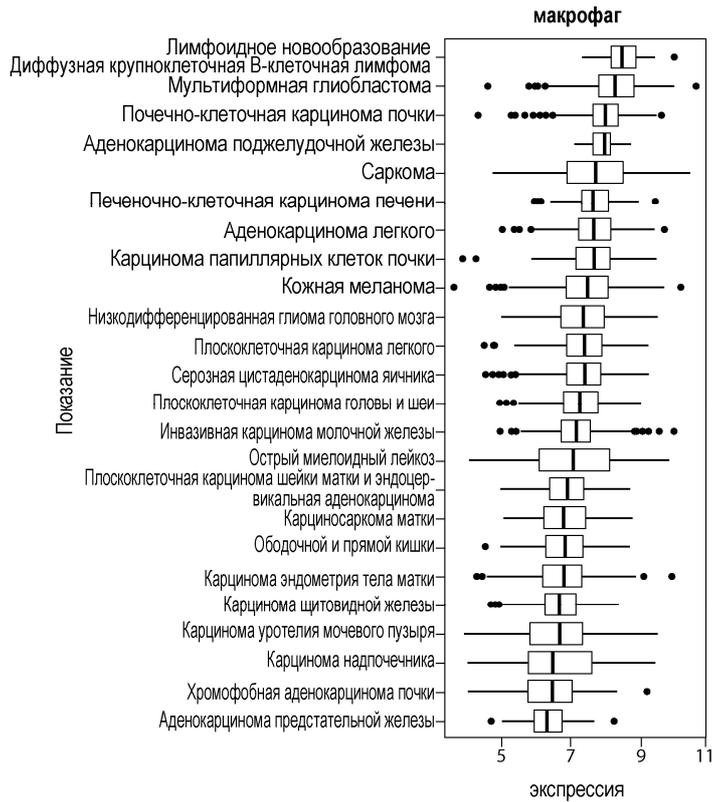


DeKruyff, et al., (2010) J Immunol. 184(4):1918-1930

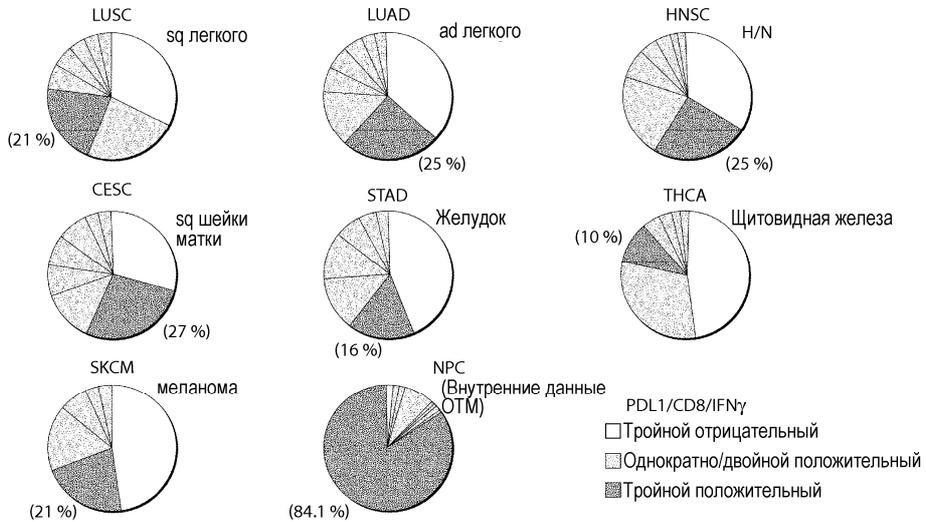
Фиг. 11



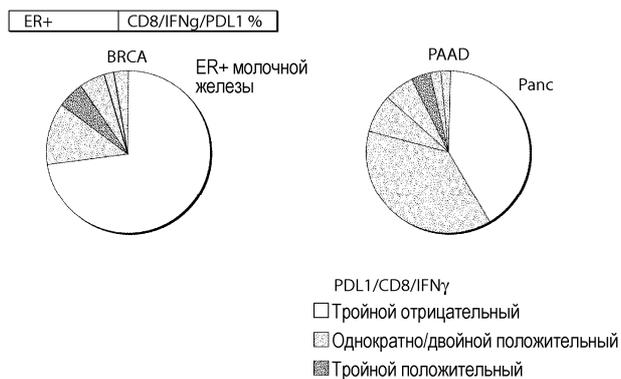
Фиг. 12



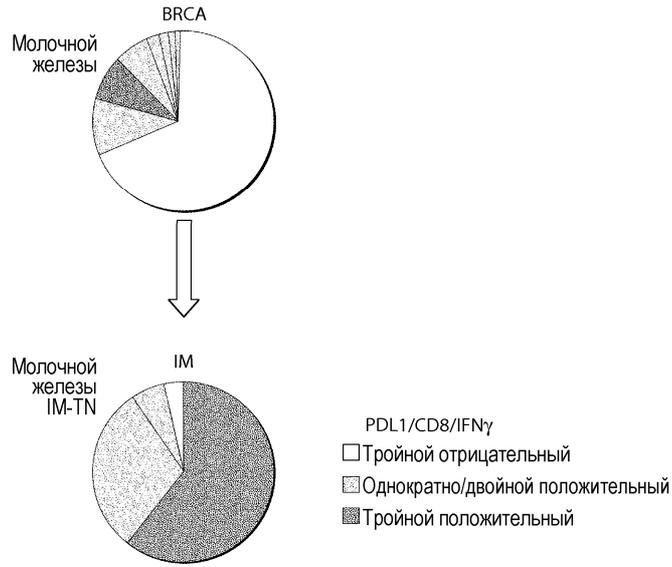
Фиг. 13



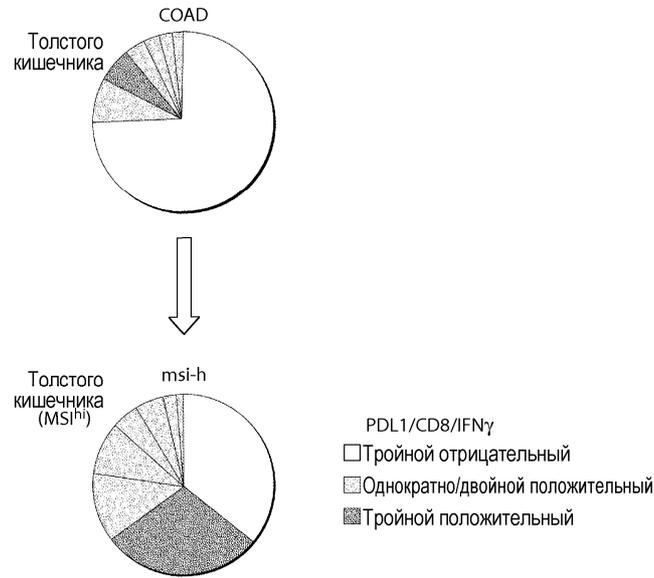
Фиг. 14



Фиг. 15



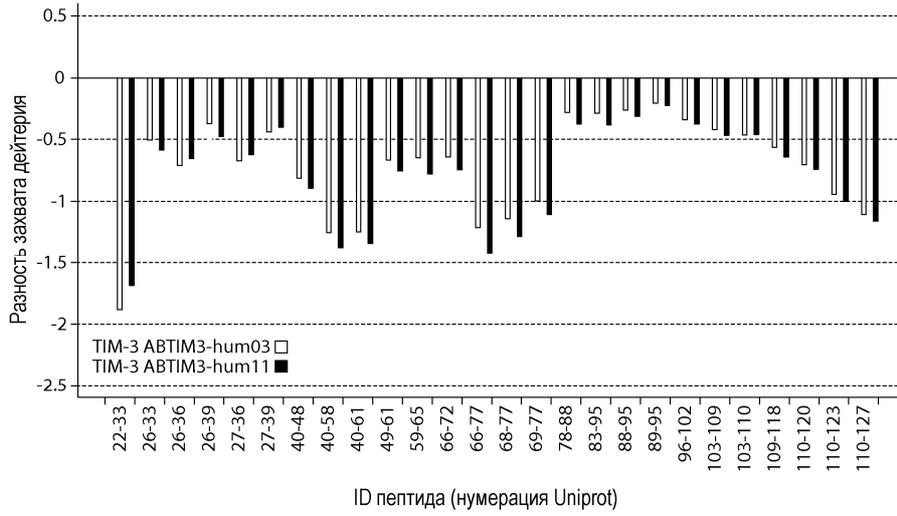
Фиг. 16



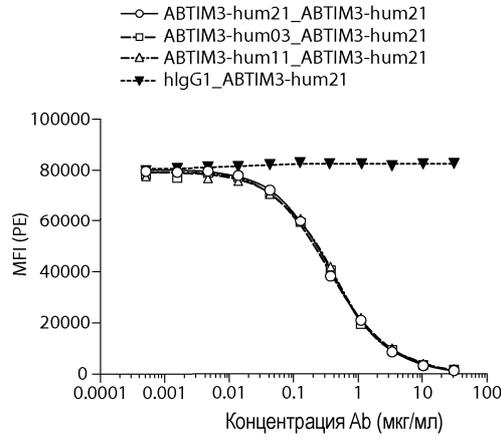
Фиг. 17



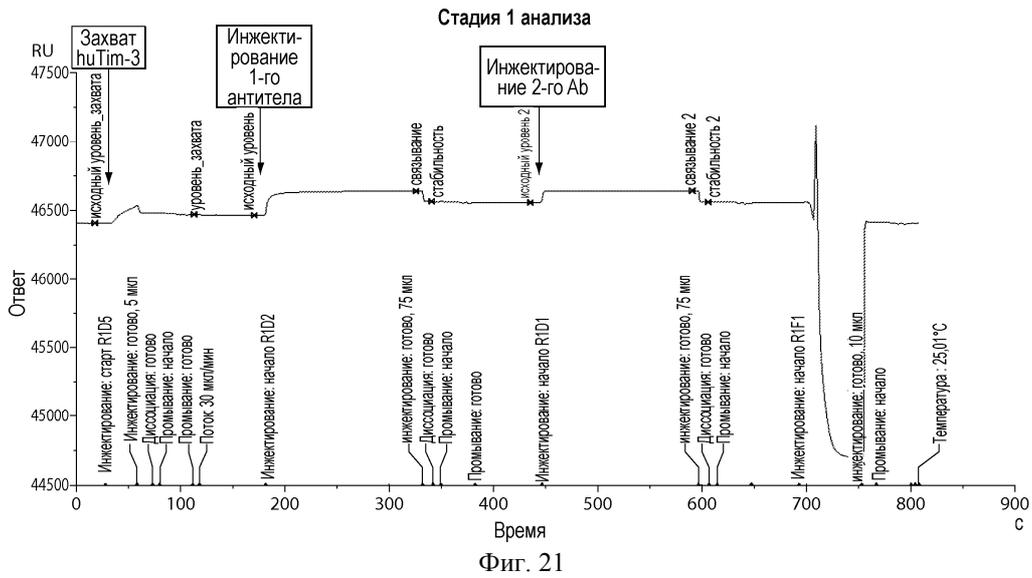
Фиг. 18



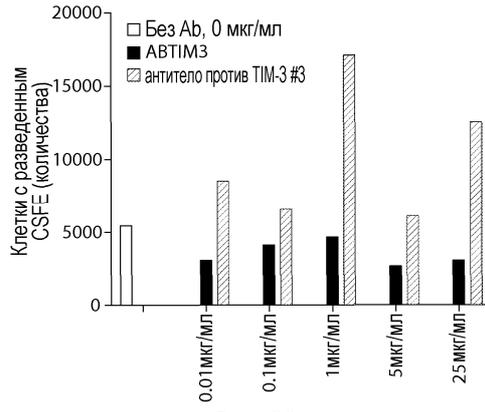
Фиг. 19



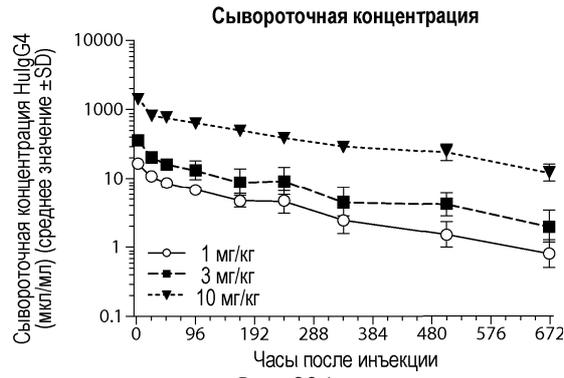
Фиг. 20



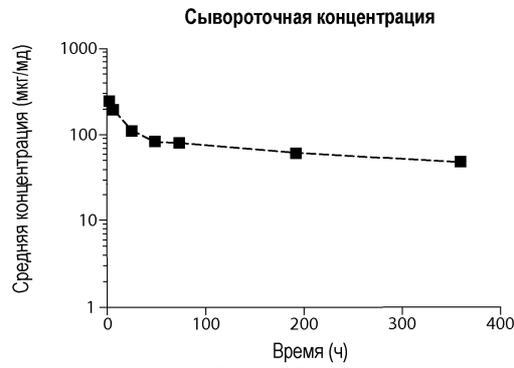
Фиг. 21



Фиг. 22



Фиг. 23А



Фиг. 23В

