

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044112**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.07.24

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

(21) Номер заявки
201990176

(22) Дата подачи заявки
2017.07.13

(54) **АНТИТЕЛА К ТИМ3 И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) **62/362,541; 62/459,499**

(32) **2016.07.14; 2017.02.15**

(33) **US**

(43) **2019.06.28**

(86) **PCT/US2017/041946**

(87) **WO 2018/013818 2018.01.18**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БРИСТОЛ-МАЙЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)**

(72) Изобретатель:
**Щебай Сяо Мин, Селби Марк Дж.,
Хан Мишель Миньхуа, Би Кристин,
Ден Энди Кс., Чантхарапай Анан,
Дево Брижитт, Ли Хуэймин, Шеппард
Пол О., Корман Алан Дж., Ардурел
Дэниэл Ф., Деянова Екатерина, Хуан
Ричард, Чен Гуодонг, Кухне Мишель,
Труонг Хонг-Ан (US)**

(74) Представитель:
**Гизатуллина Е.М., Лыу Т.Н., Угрюмов
В.М., Дементьев В.Н., Строкова О.В.,
Христофоров А.А., Гизатуллин Ш.Ф.,
Костюшенкова М.Ю., Осипенко
Н.В., Лебедев В.В., Парамонова К.В.,
Николаева О.А. (RU)**

(56) **WO-A2-2013006490
US 2012/189617 A1
WO-A1-2016068802
WO-A1-2016071448
US-A1-2015218274**

**YOSHIKANE KIKUSHIGE ET AL: "TIM-3
as a novel therapeutic target for eradicating
acute myelogenous leukemia stem cells",
INTERNATIONAL JOURNAL OF HEMATOLOGY,
vol. 98, no. 6, 18 September 2013 (2013-09-18), pages
627-633, XP055181432, ISSN: 0925-5710, DOI:
10.1007/S12185-013-1433-6 the whole document in
particular, pages 629-630**

**ROBERT L. FERRIS ET AL: "Too Much of
a Good Thing? Tim-3 and TCR Signaling in T Cell
Exhaustion", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY,
vol. 193, no. 4, 1 August 2014 (2014-08-01), pages
1525-1530, XP055327897, US ISSN: 0022-1767,
DOI: 10.4049/jimmunol.1400557 in particular, pages
1525-1526**

(57) В изобретении предусмотрены антитела, которые связываются с белком-3, содержащим Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина (ТИМ3). Также предусмотрено применение этих антител в терапевтических целях, таких как лечение рака. Дополнительно предусмотрены клетки, которые производят антитела, полинуклеотиды, кодирующие области тяжелых и/или легких цепей антител, и векторы, содержащие полинуклеотиды, кодирующие области тяжелых и/или легких цепей антител.

B1

044112

044112

B1

Ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с предварительной заявкой на патент США № 62/362541, поданной 14 июля 2016 г., и 62/459,499, поданной 15 февраля 2017 г., каждая из которых полностью включена посредством ссылки.

Ссылка на перечень последовательностей, представленных в электронном виде через EFS-Web

Содержание представленного в электронном виде перечня последовательностей в текстовом файле ASCII (имя: 3338_052PC02_SeqListing.txt; размер: 779837 байт и дата создания: 10 июля 2017 г.), поданного с заявкой, полностью включено в настоящий документ посредством отсылки.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Белок-3, содержащий Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина (TIM3), также известный как клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2), представляет собой трансмембранный белок типа I, который функционирует в качестве ключевого регулятора иммунных ответов. TIM3 первоначально идентифицировали на активированных производящих IFN- γ Т-клетках (например, хелперных CD4⁺ Т-клетках типа 1 и цитотоксических CD8⁺ Т-клетках) и показали, что они индуцируют гибель или истощение Т-клеток после связывания с галектином-9. Более поздние исследования показали, что экспрессия TIM3 также важна для регуляции активности многих врожденных иммунных клеток (например, макрофагов, моноцитов, дендритных клеток, тучных клеток и клеток-натуральных киллеров). Смотрите Han G et al., *Front Immunol.* 4: 449 (2013).

Как и многие ингибирующие рецепторы (например, PD-1 и CTLA-4), экспрессия TIM3 была связана со многими типами хронических заболеваний, включая в себя рак. TIM3⁺ Т-клетки были обнаружены у пациентов с прогрессирующей меланомой, мелкоклеточным раком легкого или фолликулярной В-клеточной неходжкинской лимфомой. А наличие регуляторных TIM3⁺ Т-клеток было описано как эффективный индикатор прогрессирования рака легких. Смотрите Anderson AC. *Cancer Immunol Res.* 2: 393-8 (2014).

Было выявлено несколько потенциальных лигандов для TIM3: галектин-9, HMGB1, семафорин-4А, CEACAM-1, ILT-4 и фосфатидилсерин (PtdSer или PS). PS представляет собой важный компонент клеточной мембраны и, как правило, локализуется на внутренней поверхности клеточных мембран. Но когда клетка подвергается апоптозу, PS перераспределяется и экспонируется на внешней мембране. Это перераспределение также наблюдается во многих линиях опухолевых клеток. Смотрите Riedl S et al., *Biochim Biophys Acta.* 1808: 2638-2645 (2011). Связывание TIM3 с PS может быть критическим для фагоцитоза и перекрестной презентации. Смотрите Nakayama M et al., *Blood.* 113: 3821-30 (2009).

Исследования показали тесную связь между TIM3 и ингибирующим рецептором PD-1. Например, многие опухолеспецифические Т-клетки экспрессируют как PD-1, так и TIM3, и было показано, что эти Т-клетки более дисфункциональны по сравнению с Т-клетками, которые экспрессируют только PD-1 или TIM3. См. Fourcade J et al., *J Exp Med.* 207: 2175-2186 (2010).

Соответственно, средства, которые направлены воздействовать на TIM3, и способы применения таких средств очень желательны для разработки новых способов иммунотерапии рака и улучшения традиционных способов иммунотерапии рака.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

В настоящем документе предусмотрены выделенные антитела, такие как моноклональные антитела, в частности человеческие (например, моноклональные) антитела, которые специфически связываются с TIM3 и обладают желаемыми функциональными свойствами. Эти свойства включают в себя, например, высокую аффинность связывания с TIM3 человека, связывание с TIM3 обезьяны (например, TIM3 яванского макака) и способность стимулировать иммунные ответы, например, антигенспецифические ответы Т-клеток, такие как опухоленесущий или вирус-несущий (зараженный вирусом) субъект, и обнаруживать белок TIM3 в образце.

Согласно одному аспекту выделенные антитела или их антигенсвязывающие части, которые связываются с TIM3, проявляют по меньшей мере одно из следующих свойств:

- (a) связывание с растворимым и/или мембраносвязанным TIM3 человека;
- (b) связывание с растворимым и/или мембраносвязанным TIM3 яванского макака;
- (c) индуцирование или стимуляция иммунного ответа;
- (d) индуцирование или стимуляция активации Т-клеток, например, активации Th1-клеток (о чем свидетельствует, например, усиленная секреция и/или пролиферация цитокинов);
- (e) индуцирование или стимуляция пролиферации Т-клеток (например, CD4⁺, CD8⁺ Т-клеток, Th1-клеток или TIL), например, в анализе совместного культивирования, таком как описано в примерах;
- (f) индуцирование или стимуляция производства IFN- γ Т-клетками, например, Th1-клетками или инфильтрирующими опухолю лимфоцитами (TIL), такими как TIL из опухолей почки, легких, поджелудочной железы или молочной железы человека, как определено, например, в описанном в примерах анализе;
- (g) блокирование или ингибирование связывания TIM3 человека с PtdSer, как определено, например, в описанном в примерах анализе;

(h) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;

(i) связывание с внеклеточным доменом TIM3 человека (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) или (d) WTSRYWLNQDFR (SEQ ID NO: 297);

(j) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека описанного в настоящем документе связывающегося с TIM3 антитела (например, 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6 или любого из TIM3.2-TIM3.18), как определено, например, в описанном в примерах анализе;

(k) связывание с TIM3 человека, но не с TIM3 человека, содержащим аминокислотную замену одного или нескольких из следующих аминокислотных остатков: L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120, как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20);

(l) связывание с областями TIM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGCAPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено с помощью HDX-MS;

(m) наличие вариабельных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, взаимодействующих по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или IL12, как определено рентгеновской кристаллографией, и/или (n) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части стимулируют противоопухолевый иммунный ответ, например, антигенспецифический Т-клеточный ответ. Согласно другим вариантам осуществления антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части увеличивают производство цитокинов (например, IFN- γ) в экспрессирующих TIM3 Т-клетках и/или увеличивают пролиферацию Т-клеток. Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части не связываются с Fc-рецепторами.

Согласно определенным вариантам осуществления антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части связываются с растворимым TIM3 человека с K_D 10 нМ или менее, как измерено посредством Вiascore, связываются с мембраносвязанным TIM3 человека с K_D 1 нМ или менее, как измерено посредством анализа Скэтчарда, связываются с растворимым TIM3 яванского макака с K_D 100 нМ или менее, как измерено посредством Вiascore, связываются с мембраносвязанным TIM3 человека с EC_{50} 1 мкг/мл или менее, как измерено посредством проточной цитометрии, связываются с мембраносвязанным TIM3 человека с EC_{50} 0,1 мкг/мл или менее, как измерено посредством проточной цитометрии, связываются с мембраносвязанным TIM3 яванского макака с EC_{50} 1 мкг/мл или менее, как измерено посредством проточной цитометрии, связываются с мембраносвязанным TIM-3 яванского макака с K_D 1 нМ или менее, как измерено посредством анализа Скэтчарда.

Настоящее изобретение относится к выделенным антителам или их антигенсвязывающим частям, которые связываются с TIM3 человека и содержат CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, причем CDR3 тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127, SEQ ID NO: 128 и SEQ ID NO: 129.

Согласно некоторым вариантам осуществления CDR1 тяжелой цепи содержит X1, X2, X3, X4, Y, X5 и X6, и причем X1 представляет собой S или отсутствует, X2 представляет собой R или отсутствует, X3 представляет собой S, R или D, X4 представляет собой Y или H, X5 представляет собой W или M и X6 представляет собой G, N, S или H. Согласно другим вариантам осуществления CDR1 тяжелой цепи содержит X1, Y, Y, M и X2, и причем X1 представляет собой S или D и X2 представляет собой H или S. Согласно некоторым вариантам осуществления CDR1 тяжелой цепи содержит R, X1, Y, W и X2, и причем X1 представляет собой H или Y и X2 представляет собой N или S.

Согласно одному варианту осуществления CDR2 тяжелой цепи содержит X1, I, X2, X3, X4, G, X5, X6, X7, X8, Y, X9, X10, X11, X12, X13 и X14, и причем X1 представляет собой S, Y, I или F, X2 представляет собой Y, H, N или S, X3 представляет собой Y, P, G, T или S, X4 представляет собой S, T, R или G, X5 представляет собой F, S или D, X6 представляет собой S, T или I, X7 представляет собой I или отсутствует, X8 представляет собой Y, N или I, X9 представляет собой N, Q, S или A, X10 представляет собой P, S, Q или D, X11 представляет собой S или K, X12 представляет собой L, F или V, X13 представляет собой K или Q и X14 представляет собой S или G. Согласно другому варианту осуществления CDR2 тяжелой цепи содержит Y, I, H, Y, X1, G, S, T, N, Y, N, X2, S, L, K и S, и причем X1 представляет собой S или T и X2 представляет собой S или P. Согласно некоторым вариантам осуществления CDR2 тяжелой цепи содержит F, I, S, X1, X2, G, S, X3, I, Y, Y, A, D, S, V, K и G, и причем X1 представляет собой G, T или S, X2 представляет собой G или S и X3 представляет собой T или I. Согласно другим вариантам осуществления CDR2 тяжелой цепи содержит I, I, N, P, R, G, D, S, I, I, Y, A, Q, K, F, Q и G.

Согласно определенным вариантам осуществления антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части содержат CDR1 легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 64 или SEQ ID NO: 65, CDR2 легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 66 или SEQ ID NO: 67, и/или CDR3 легкой цепи, содержащую SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70 или SEQ ID NO: 71.

В настоящем документе предусмотрены выделенные антитела или их антигенсвязывающие части, которые связываются с TIM3 человека и содержат CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, причем

(a) CDR1 тяжелой цепи выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 и SEQ ID NO: 45;

(b) CDR2 тяжелой цепи выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47; SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49; SEQ ID NO: 50; SEQ ID NO: 51; SEQ ID NO: 52; SEQ ID NO: 122; SEQ ID NO: 123; SEQ ID NO: 124 и SEQ ID NO: 125;

(c) CDR3 тяжелой цепи выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54; SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56; SEQ ID NO: 57; SEQ ID NO: 58; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 126; SEQ ID NO: 127; SEQ ID NO: 128 и SEQ ID NO: 129;

(d) CDR1 легкой цепи содержит SEQ ID NO: 64 или SEQ ID NO: 65;

(e) CDR2 легкой цепи содержит SEQ ID NO: 66 или SEQ ID NO: 67, а также

(f) CDR3 легкой цепи содержит SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70 или SEQ ID NO: 71.

В настоящем документе предусмотрены выделенные антитела или их антигенсвязывающие части, которые связываются с TIM3 человека и содержат:

(a1) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 53 соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a2) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 122, 53, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a3) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 123, 53, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a4) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 124, 53, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a5) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 126, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a6) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 127, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a7) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 128, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a8) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 129, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a9) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 122, 128, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a10) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 122, 126, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(b1) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 42, 47, 54, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 69, соответственно;

(b2) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 42, 125, 54, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 69, соответственно;

(c) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 43, 48 и 55, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 64, 66 и 69, соответственно;

(d) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 44, 49 и 56, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 64, 66 и 68, соответственно;

или гуманизированное антитело.

Согласно определенным вариантам осуществления антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части специфически связываются с TIM3 человека и содержат

- a1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 301 (или 302) и 29, соответственно;
- a2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 1 (или 8) и 29, соответственно;
- a3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 15 (или 22) и 29, соответственно;
- a4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 303 (или 304) и 29, соответственно;
- a5) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 72 (или 82) и 29, соответственно;
- a6) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 92 (или 102) и 29, соответственно;
- a7) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 305 (или 306) и 29, соответственно;
- a8) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 73 (или 83) и 29, соответственно;
- a9) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 93 (или 103) и 29, соответственно;
- a10) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 307 (или 308) и 29, соответственно;
- a11) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 74 (или 84) и 29, соответственно;
- a12) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 94 (или 104) и 29, соответственно;
- a13) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 309 (или 310) и 29, соответственно;
- a14) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 75 (или 85) и 29, соответственно;
- a15) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 95 (или 105) и 29, соответственно;
- a16) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 311 (или 312) и 29, соответственно;
- a17) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 76 (или 86) и 29, соответственно;
- a18) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 96 (или 106) и 29, соответственно;
- a19) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 313 (или 314) и 29, соответственно;
- a20) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 77 (или 87) и 29, соответственно;
- a21) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 97 (или 107) и 29, соответственно;
- a22) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 315 (или 316) и 29, соответственно;
- a23) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 78 (или 88) и 29, соответственно;
- a24) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 98 (или 108) и 29, соответственно;
- a25) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 317 (или 318) и 29, соответственно;
- a26) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 79 (или 89) и 29, соответственно;
- a27) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 99 (или 109) и 29, соответственно;
- a28) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 319 (или 320) и 29, соответственно;
- a29) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 349 (или 350) и 29, соответственно;
- a30) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 351 (или 352) и 29, со-

ственно;

(g3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 21 (или 28) и 30, соответственно, или (g4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 347 (или 348) и 30, соответственно.

Согласно другим вариантам осуществления антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части характеризуются одним или несколькими из следующих свойств:

(1) связывание с растворимым TIM3 человека, например, с K_D 10 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(2) связывание с растворимым TIM3 яванского макака, например, с K_D 100 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 100 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(3) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с EC_{50} 1 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 1 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(4) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(5) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 20 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 20 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(6) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(7) индуцирование или усиление активации Т-клеток (например, путем блокирования или уменьшения ингибирующего эффекта TIM3), о чем свидетельствует (i) увеличение производства IFN- γ в экспрессирующих TIM3 Т-клетках (например, Th1-клетках или TIL) и/или (ii) усиление пролиферации экспрессирующих TIM3 Т-клеток (например, Th1-клеток или TIL), например, как описано в примерах;

(8) стимуляция пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), например, как описано в примерах;

(9) ингибирование связывания фосфатидилсерина с TIM3, например, как измерено посредством анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3, например, как описано в примерах;

(10) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;

(11) связывание с одной из следующих областей внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) и (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297), например, как описано в примерах;

(12) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, при котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 (как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа, например, как описано в примерах;

(13) конкурирование в одном или обоих направлениях за связывание с TIM3 человека с антителом, содержащим домены VH и VL любого из 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или TIM3.7, TIM3.8, TIM3.10, TIM3.11, TIM3.12, TIM3.13, TIM3.14, TIM3.15, TIM3.16, TIM3.17 и TIM3.18, например, как описано в примерах;

(14) связывание с областями TIM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено HDX-MS, например, как описано в примерах;

(15) наличие переменных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено рентгеновской кристаллографией (например, описано в примерах; нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) и/или

(16) (a) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 аминокислот C58, P59, F61, E62, C63, R11, D120 и необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа; (b) связывание с ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством HDX-MS, как описано в примерах; и/или (c) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

В настоящем документе предусмотрены биспецифические молекулы, содержащие антитело к TIM3, связанное с молекулой, обладающей второй специфичностью связывания.

В настоящем документе предусмотрены нуклеиновые кислоты, кодирующие переменные области тяжелой и/или легкой цепи антител к TIM3 или их антигенсвязывающие части, векторы экспрессии, содержащие молекулы нуклеиновой кислоты, и клетки, трансформированные векторами экспрессии.

В настоящем документе предусмотрены иммуноконъюгаты, содержащие описанные в настоящем документе антитела к TIM3, связанные со средством.

В настоящем документе предусмотрены композиции, содержащие антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части, биспецифические молекулы или иммуноконъюгаты, описанные в настоящем документе, и носитель. В настоящем документе также предусмотрены наборы, содержащие антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части, биспецифические молекулы или иммуноконъюгаты, описанные в настоящем документе, и инструкции по применению.

В настоящем документе предусмотрен способ получения антител к TIM3 или их антигенсвязывающих частей, предусматривающий экспрессию антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части в клетке и выделение антитела или его антигенсвязывающей части из клетки.

В настоящем документе предусмотрен способ стимуляции антигенспецифического T-клеточного ответа, предусматривающий контактирование T-клетки с антигеном к TIM3 или его антигенсвязывающей частью, биспецифическими молекулами или иммуноконъюгатами, описанными в настоящем документе, так что стимулируется ответ антигенспецифической T-клетки (например, путем ингибирования отрицательного воздействия TIM3 на клетки, например, T-клетки).

В настоящем документе предусмотрен способ активации или костимуляции T-клетки, например, эффекторной T-клетки (например, Th1-клетки), предусматривающий контактирование клетки, например, эффекторной T-клетки, с антигеном к TIM3 или его антигенсвязывающей частью, биспецифическими молекулами или иммуноконъюгатами, описанными в настоящем документе, и CD3, причем эффекторная T-клетка активируется или костимулируется (например, путем ингибирования негативного воздействия TIM3 на клетки, например, T-клетки).

В настоящем документе предусмотрен способ увеличения производства IFN- γ и/или пролиферации T-клетки, например, Th1-клетки или TIL, предусматривающий контактирование T-клетки с эффективным количеством антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, биспецифических молекул или иммуноконъюгатов, описанных в настоящем документе.

В настоящем документе предусмотрен способ увеличения производства IFN- γ в T-клетках у субъекта, предусматривающий введение субъекту эффективного количества антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, биспецифической молекулы или иммуноконъюгата, описанных в настоящем документе, для увеличения производства IFN- γ из T-клеток.

В настоящем документе предусмотрен способ стимуляции активности TIL у субъекта, предусматривающий введение субъекту терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части таким образом, что TIL пролиферируют или секретируют цитокин, например, IFN- γ .

В настоящем документе предусмотрены способы стимуляции NK-клеток (например, путем увеличения цитотоксической активности NK-клеток) и/или макрофагов или других антигенпрезентирующих клеток у субъекта, предусматривающие введение субъекту эффективного количества антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, биспецифической молекулы или иммуноконъюгата, описанных в настоящем документе. Например, описанное в настоящем документе антитело к TIM3 может увеличивать секрецию IL-12 антигенпрезентирующими клетками, контактирующими с антигеном к TIM3.

В настоящем документе предусмотрен способ стимуляции иммунного ответа у субъекта, предусматривающий введение субъекту антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, биспецифической молекулы или иммуноконъюгата, описанных в настоящем документе, таким образом, что у субъекта стимулируется иммунный ответ. Согласно определенным вариантам осуществления у субъекта имеется опухоль, и стимулируется иммунный ответ против опухоли.

В настоящем документе предусмотрен способ ингибирования роста опухолей или уменьшения размера опухолей у субъекта, предусматривающий введение субъекту антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, биспецифической молекулы или иммуноконъюгата, описанных в настоящем документе, так что рост опухоли у субъекта ингибируется.

В настоящем документе предусмотрен способ лечения рака, например, посредством иммунотерапии, предусматривающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, биспецифической молекулы или иммуноконъюгата, описанных в настоящем документе, для лечения рака. Согласно некоторым вариантам осуществления рак выбирают из группы, состоящей из: рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака матки/шейки матки, рака яичника, рака простаты, рака яичка, рака пищевода, рака желудочно-кишечного тракта, рака поджелудочной железы, колоректального рака, рака толстой кишки, рака почки, рака головы и шеи, рака легких, рака желудка, герминогенного рака, рак костей, рак печени, рак щитовидной железы, рака кожи, новообразования центральной нервной системы, лимфомы, лейкоза, миеломы, саркомы, связанного с вирусом рака и любых их комбинаций. Согласно некоторым вариантам осуществления рак

представляет собой метастатический рак, рефрактерный рак или рецидивирующий рак. Согласно некоторым вариантам осуществления рак представляет собой холодную опухоль.

Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе способы дополнительно предусматривают одно или несколько дополнительных терапевтических средств с антителом к TIM3, например, с антителом к PD-1, антителом к LAG-3, антителом к CTLA-4, антителом к GITR и/или антителом к PD-L1.

В настоящем документе предусмотрен способ обнаружения присутствия белка TIM3 в образце, предусматривающий контактирование образца с антителом к TIM3 или его антигенсвязывающей частью в условиях, которые позволяют образовать комплекс между антителом или его антигенсвязывающей частью и TIM3, и обнаружение образования комплекса.

Варианты осуществления

Вариант осуществления 1. Выделенное антитело (например, человеческое антитело) или его антигенсвязывающая часть, которая связывается с белком 3, содержащим Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина человека (TIM3), причем антитело или его антигенсвязывающая часть содержит CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи и CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, причем

(a) CDR1 тяжелой цепи выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42; SEQ ID NO: 43; SEQ ID NO: 44 и SEQ ID NO: 45;

(b) CDR2 тяжелой цепи выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47; SEQ ID NO: 48; SEQ ID NO: 49; SEQ ID NO: 50; SEQ ID NO: 51; SEQ ID NO: 52; SEQ ID NO: 122; SEQ ID NO: 123; SEQ ID NO: 124 и SEQ ID NO: 125;

(c) CDR3 тяжелой цепи выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54; SEQ ID NO: 55; SEQ ID NO: 56; SEQ ID NO: 57; SEQ ID NO: 58; SEQ ID NO: 59; SEQ ID NO: 126; SEQ ID NO: 127; SEQ ID NO: 128 и SEQ ID NO: 129;

(d) CDR1 легкой цепи содержит SEQ ID NO: 64 или SEQ ID NO: 65;

(e) CDR2 легкой цепи содержит SEQ ID NO: 66 или SEQ ID NO: 67, а также

(f) CDR3 легкой цепи содержит SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70 или SEQ ID NO: 71.

Вариант осуществления 2. Выделенное антитело или его антигенсвязывающая часть, которая связывается с TIM3 человека и содержит:

(a1) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 53, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a2) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 122, 53, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a3) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 123, 53, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a4) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 124, 53, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a5) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 126, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a6) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 127, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a7) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 128, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a8) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 46, 129, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a9) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 122, 128, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(a10) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 41, 122, 126, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68, соответственно;

(b1) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 42, 47, 54, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 69, соответственно;

(b2) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 42,

125, 54, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 69, соответственно;

(c) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 43, 48 и 55, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 64, 66 и 69, соответственно;

(d) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 44, 49 и 56, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 64, 66 и 68, соответственно;

(e) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 45, 50 и 57, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 64, 66 и 69, соответственно;

(f) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 45, 50 и 57, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 64, 66 и 71, соответственно;

(g1) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 45, 50 и 57, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 65, 67 и 70, соответственно;

(g2) CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 45, 50, 57, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 71, соответственно;

(g3) CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области тяжелой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 45, 50, 57, соответственно, и CDR1, CDR2 и CDR3 вариабельной области легкой цепи, которые содержат SEQ ID NO: 64, 66, 69, соответственно;

(h) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 45, 51 и 58, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 64, 66 и 68, соответственно;

(i) последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи, содержащие SEQ ID NO: 45, 52 и 59, соответственно, и/или последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 64, 66 и 69, соответственно.

Вариант осуществления 3. Антитело или его антигенсвязывающая часть по варианту осуществления 1 или 2, причем вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 80%, по меньшей мере приблизительно на 85%, по меньшей мере приблизительно на 90%, по крайней мере приблизительно на 95%, по меньшей мере приблизительно на 96%, по меньшей мере приблизительно на 97%, по меньшей мере приблизительно на 98%, по меньшей мере приблизительно на 99% или приблизительно на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121 и 364, и/или вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 80%, по меньшей мере приблизительно на 85%, по меньшей мере приблизительно на 90%, по меньшей мере приблизительно на 95%, по меньшей мере приблизительно на 96%, по меньшей мере приблизительно на 97%, по меньшей мере приблизительно на 98%, по меньшей мере приблизительно на 99% или приблизительно на 100% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 60, 61, 62 и 63.

Вариант осуществления 4. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-3, причем антитело или его антигенсвязывающая часть содержит Fc IgG1 без эффекторных функций, который содержит следующие мутации: L234A, L235E, G237A и необязательно A330S и P331S.

Вариант осуществления 5. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из предшествующих вариантов осуществления, содержащее константную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 263-266.

Вариант осуществления 6. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из предшествующих вариантов осуществления, причем антитело или его антигенсвязывающая часть представляет собой человеческое или гуманизованное антитело.

Вариант осуществления 7. Антитело по любому из вариантов осуществления 1-6, причем антитело содержит:

(a1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 301 (или 302) и 29, соответственно;

(a2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 1 (или 8) и 29, соответственно;

(a3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 15 (или 22) и 29, соответственно;

(a4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 303 (или 304) и 29, соответственно;

- (b5) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 80 (или 90) и 30, соответственно;
- (b6) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 100 (или 110) и 30, соответственно;
- (b7) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 325 (или 326) и 30, соответственно;
- (c1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 327 (или 328) и 30, соответственно;
- (c2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 3 (или 10) и 30, соответственно;
- (c3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 17 (или 24) и 30, соответственно;
- (c4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 329 (или 330) и 30, соответственно;
- (d1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 331 (или 332) и 29, соответственно;
- (d2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 4 (или 11) и 29, соответственно;
- (d3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 18 (или 25) и 29, соответственно;
- (d4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 333 (или 334) и 29, соответственно;
- (e1.1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 335 (или 336) и 32, соответственно;
- (e1.2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 335 (или 336) и 33, соответственно;
- (e1.3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 335 (или 336) и 31, соответственно;
- (e2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 5 (или 12) и 33, соответственно;
- (e3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 19 (или 26) и 33, соответственно;
- (e4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 337 (или 338) и 33, соответственно;
- (e5) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 81 (или 91) и 33, соответственно;
- (e6) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 101 (или 111) и 33, соответственно;
- (e7) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 339 (или 340) и 33, соответственно;
- (f1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 341 (или 342) и 29, соответственно;
- (f2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 6 (или 13) и 29, соответственно;
- (f3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 20 (или 27) и 29, соответственно;
- (f4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 343 (или 344) и 29, соответственно;
- (g1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 345 (или 346) и 29, соответственно;
- (g2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 7 (или 43) и 30, соответственно;
- (g3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 21 (или 28) и 30, соответственно, или
- (g4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 347 (или 348) и 30, соответственно,

причем антитело специфически связывается с TIM3 человека.

Вариант осуществления 8. Антитело или его антигенсвязывающая часть по любому из вариантов осуществления 1-7, причем антитело или его антигенсвязывающая часть обладает одним или несколькими из следующих свойств:

(1) связывание с растворимым TIM3 человека, например, с K_D 10 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством Biacore;

- (2) связывание с растворимым TIM3 яванского макака, например, с K_D 100 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 100 нМ), например, как измерено посредством Вiasoge;
- (3) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с EC_{50} 1 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 1 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии;
- (4) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда;
- (5) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 20 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 20 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии;
- (6) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда;
- (7) индуцирование или усиление активации Т-клеток (например, путем блокирования или уменьшения ингибирующего эффекта TIM3), о чем свидетельствует (i) увеличение производства IFN- γ в экспрессирующих TIM3 Т-клетках (например, Th1-клетках или TIL) и/или (ii) усиление пролиферации экспрессирующих TIM3 Т-клеток (например, Th1-клеток или TIL);
- (8) стимуляция пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR);
- (9) ингибирование связывания фосфатидилсерина с TIM3, например, при измерении посредством анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3;
- (10) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;
- (11) связывание с одной из следующих областей внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) и (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297);
- (12) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, при котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 замещены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа;
- (13) конкурирование в одном или обоих направлениях за связывание с TIM3 человека с антителом, содержащим домены VH и VL любого из 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или TIM3.7, TIM3.8, TIM3.10, TM3.11, TM3.12, TM3.13, TM3.14, TM3.15, TM3.16, TM3.17 и TM3.18;
- (14) связывание с областями TM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено посредством HDX-MS;
- (15) наличие переменных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено рентгеновской кристаллографией (например, как описано в примерах; нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)); и/или
- (16) (a) наличие сниженного связывания с TM3 человека, в котором 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 аминокислот C58, P59, F61, E62, C63, R111, D120 и, необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TM3 дикого типа; (b) связывание с ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹RIQIPGMNDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством HDX-MS, как описано в примерах; и/или (c) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3.

Вариант осуществления 9. Биспецифическая молекула, содержащая антитело по любому из предшествующих вариантов осуществления, связанное с молекулой, обладающей второй специфичностью связывания.

Вариант осуществления 10. Нуклеиновая кислота, кодирующая переменную область тяжелой и/или легкой цепи антитела или его антигенсвязывающей части по любому из вариантов осуществления 1-8.

Вариант осуществления 11. Клетка, трансформированная нуклеиновой кислотой по варианту осуществления 10.

Вариант осуществления 12. Иммуноконъюгат, содержащий антитело по любому из вариантов осуществления 1-8, связанный со средством.

Вариант осуществления 13. Композиция, содержащая антитело или его антигенсвязывающую часть, биспецифическую молекулу или иммуноконъюгат по любому из вариантов осуществления 1-9 и 12 и носитель.

Вариант осуществления 14. Набор, содержащий антитело или его антигенсвязывающую часть, или биспецифическую молекулу, или иммуноконъюгат по любому из вариантов осуществления 1-9 и 12, и инструкции по применению.

Вариант 15. Способ стимуляции, усиления или модулирования иммунного ответа у нуждающегося в этом субъекта или лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающий введение анти-

тела или его антигенсвязывающей части, биспецифической молекулы или иммуноконъюгата, по любому из вариантов осуществления 1-9 и 12, причем стимулируется антигенспецифический Т-клеточный ответ, причем активируется или костимулируется эффекторная Т-клетка, причем увеличивается производство IFN- γ в Т-клетке, причем увеличиваются количество Т-клеток, причем стимулируется активность TIL, причем уменьшается размер опухоли у субъекта, причем ингибируется рост опухоли у субъекта или любая их комбинация после введения.

Другие признаки и преимущества настоящего раскрытия будут очевидны из следующего подробного описания и примеров, которые следует рассматривать как ограничивающие.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1А показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 167) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 34) варибельной области зрелой тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела 13А3 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 41), CDR2 (SEQ ID NO: 46) и CDR3 (SEQ ID NO: 53) очерчены, и указаны производные V, D и J зародышевой линии.

На фиг. 1В показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 193) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 60) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) моноклонального антитела 13А3 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 64), CDR2 (SEQ ID NO: 66) и CDR3 (SEQ ID NO: 68) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 1С показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 167) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 34) области VH тяжелой цепи моноклонального антитела 13А3 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 274 и 269, соответственно), и нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 193) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 60) области VL легкой цепи моноклонального антитела 13А3 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 273 и 268, соответственно).

На фиг. 2А показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 168) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 35) варибельной области зрелой тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела 8В9 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 42), CDR2 (SEQ ID NO: 47) и CDR3 (SEQ ID NO: 54) очерчены, и указаны производные V, D и J зародышевой линии.

На фиг. 2В показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 194) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 61) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) моноклонального антитела 8В9 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 64), CDR2 (SEQ ID NO: 66) и CDR3 (SEQ ID NO: 69) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 2С показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 168) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 35) области VH тяжелой цепи моноклонального антитела 8В9 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 274 и 269, соответственно), а также нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 194) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 61) области VL легкой цепи моноклонального антитела 8В9 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 273 и 268, соответственно).

На фиг. 3А показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 169) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 36) варибельной области зрелой тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела 8С4 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 43), CDR2 (SEQ ID NO: 48) и CDR3 (SEQ ID NO: 55) очерчены, и указаны производные V, D и J зародышевой линии.

На фиг. 3В показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 194) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 61) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) моноклонального антитела 8С4 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 64), CDR2 (SEQ ID NO: 66) и CDR3 (SEQ ID NO: 69) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 3С показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 169) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 36) области VH тяжелой цепи моноклонального антитела 8С4 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 274 и 269, соответственно), а также нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 194) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 61) области VL легкой цепи моноклонального антитела 8С4 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 273 и 268, соответственно).

На фиг. 4А показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 170) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 37) варибельной области зрелой тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела 17С3 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 44), CDR2 (SEQ ID NO: 49) и CDR3 (SEQ ID NO: 56) очерчены, и указаны производные V, D и J зародышевой линии.

На фиг. 4В показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 193) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 60) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) моноклонального антитела 17С3 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 64), CDR2 (SEQ ID NO: 66) и CDR3 (SEQ ID NO: 68) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 4С показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 170) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 37) области VH тяжелой цепи моноклонального антитела 17С3 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 272 и 267, соответственно), а также нуклеотидная последо-

вательность (SEQ ID NO: 193) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 60) области VL легкой цепи моноклонального антитела 17C3 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 273 и 268, соответственно).

На фиг. 5A показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 171) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 38) варибельной области зрелой тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела 9F6 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 45), CDR2 (SEQ ID NO: 50) и CDR3 (SEQ ID NO: 57) очерчены, и указаны производные V, D и J зародышевой линии.

На фиг. 5B показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 195) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 62) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) VK1 моноклонального антитела 9F6 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 65), CDR2 (SEQ ID NO: 67) и CDR3 (SEQ ID NO: 70) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 5C показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 196) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 63) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) VK2 моноклонального антитела 9F6 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 64), CDR2 (SEQ ID NO: 66) и CDR3 (SEQ ID NO: 71) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 5D показана нуклеотидную последовательность (SEQ ID NO: 194) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 61) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) VK3 моноклонального антитела 9F6 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 64), CDR2 (SEQ ID NO: 66) и CDR3 (SEQ ID NO: 69) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 5E показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 171) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 38) области VH тяжелой цепи моноклонального антитела 9F6 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 275 и 270, соответственно), а также нуклеотидные последовательности (SEQ ID NO: 195, 196 и 194, соответственно) и аминокислотные последовательности (SEQ ID NO: 62, 63 и 61, соответственно) области VL легкой цепи VK1, VK2 и VK3 моноклонального антитела 9F6 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 276 и 271, соответственно).

На фиг. 6A показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 172) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 39) варибельной области зрелой тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела 3G4 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 45), CDR2 (SEQ ID NO: 51) и CDR3 (SEQ ID NO: 58) очерчены, и указаны производные V, D и J зародышевой линии.

На фиг. 6B показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 193) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 60) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) моноклонального антитела 3G4 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 64), CDR2 (SEQ ID NO: 66) и CDR3 (SEQ ID NO: 68) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 6C показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 172) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 39) области VH тяжелой цепи моноклонального антитела 3G4 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 275 и 270, соответственно), а также нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 193) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 60) области VL легкой цепи моноклонального антитела 3G4 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 273 и 268, соответственно).

На фиг. 7A показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 173) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 40) варибельной области зрелой тяжелой цепи (VH) моноклонального антитела 17C8 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 45), CDR2 (SEQ ID NO: 52) и CDR3 (SEQ ID NO: 59) очерчены, и указаны производные V, D и J зародышевой линии.

На фиг. 7B показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 194) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 61) варибельной области зрелой легкой цепи (VL) моноклонального антитела 17C8 к TIM3. CDR1 (SEQ ID NO: 64), CDR2 (SEQ ID NO: 66) и CDR3 (SEQ ID NO: 69) очерчены, и указаны производные V и J зародышевой линии.

На фиг. 7C показана нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 173) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 40) области VH тяжелой цепи моноклонального антитела 17C8 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 275 и 270, соответственно), а также нуклеотидная последовательность (SEQ ID NO: 194) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO: 61) области VL легкой цепи моноклонального антитела 17C8 к TIM3 с сигнальной последовательностью (SEQ ID NO: 273 и 268, соответственно).

На фиг. 8A показано выравнивание последовательности варибельной области тяжелой цепи (VH) моноклональных антител 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8. Определяющие комплементарность области (CDR) обведены.

На фиг. 8B перечислены SEQ ID NO для областей VH, каждой из CDR и их мутантов антител.

На фиг. 9A показано выравнивание последовательности варибельной области легкой цепи (VL) моноклональных антител 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6VK1, 9F6VK2, 9F6VK3, 3G4 и 17C8. Определяющие комплементарность области (CDR) обведены.

На фиг. 9B перечислены SEQ ID NO для областей VL и каждой из CDR антител.

На фиг. 10 показано выравнивание последовательности зрелой полноразмерной тяжелой цепи (HC)

моноклонального антитела TIM3.5 (13A3) и его иллюстративных вариантов: TIM3.13 (D101E), TIM3.14 (P102V), TIM3.15 (P102Y), TIM3.16 (P102L), TIM3.17 (N60Q/P102Y), TIM3.18 (N60Q/D101E), TIM3.10 (N60Q), TIM3.11 (N60S) и TIM3.12 (N60A). Область VH каждой из тяжелых цепей подчеркнута.

На фиг. 11 показано выравнивание последовательности зрелого полноразмерного HC моноклонального антитела 9F6 и его иллюстративный вариант TIM3.7 (A108T). Область VH каждой тяжелой цепи подчеркнута.

На фиг. 12 показано выравнивание последовательности зрелого полноразмерного HC моноклонального 8B9 и его иллюстративный вариант TIM3.8 (S61P). Область VH каждой тяжелой цепи подчеркнута.

На фиг. 13 перечислены SEQ ID NO полноразмерных тяжелых и легких цепей, переменных областей и CDR полученных из гибридом антител (13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8) и рекомбинантных (TIM3.2-TIM3.18) антител к TIM3 человека. Изотип тяжелой и легкой цепей также указывается. "H.n." относится к названию гибридомы. Тяжелые и легкие цепи, которые указаны на фиг. 13, могут быть получены из его элементов, например, переменных и константных областей, которые раскрыты в настоящем документе. Если SEQ ID NO не отображается в данном столбце на второй или третьей странице таблицы, он указывается в этом столбце на предшествующей странице или на странице, предшествующей ей.

На фиг. 14A-14B показаны кривые связывания и значения EC_{50} антител к TIM3 с трансфицированными TIM-3 человека клетками CHO (фиг. 14A) и активированными Т-клетками человека (фиг. 14B).

На фиг. 15A-15B показаны кривые связывания и значения EC_{50} антител к TIM3 с трансфицированной TIM3 клеточной линией CHO (фиг. 15A), и активированными Т-клетками яванского макака (фиг. 15B).

На фиг. 16 показана анти-TIM3 активность (при различных концентрациях антител) в стимуляции производства IFN- γ из инфильтрирующей опухоль лейкоцитов (TIL) при почечно-клеточной карциноме (RCC). 8 столбцов для каждого антитела представляют собой различные концентрации антител, как указано.

На фиг. 17A-17B показана анти-TIM3 активность (при различных концентрациях антител) в стимуляции производства IFN- γ из TIL рака легких (фиг. 17A, IFN- γ ELISA; фиг. 17B, внутриклеточное окрашивание IFN- γ). На фиг. 17A отдельный столбец для каждого антитела представляет собой различные концентрации антитела, как указано. На фиг. 17B на верхней панели показаны клетки CD4⁺, а на нижней панели показаны клетки CD8⁺. Содержание TIM3 измеряли с помощью 8B9 (ось X).

На фиг. 18 показаны антитела к TIM-3 (то есть антитела 13A3 и 3G4) при стимуляции секреции IFN- γ из TIL, выделенных из различных тканей в присутствии клеток CHO-OKT3.

На фиг. 19 показано перекрестное блокирование антител к TIM-3 на активированных человеческих Т-клетках.

На фиг. 20 показаны аминокислотные остатки, которые необходимы для связывания таких моноклональных антител к TIM3, как 13A3, 3G4, 17C3 и 8B9, с TIM3 человека. Сигнальная последовательность и трансмембранные домены подчеркнуты.

На фиг. 21A-21B показано, что определенные антитела к TIM3 блокируют взаимодействие между TIM3 человека и PS-липосомой. На фиг. 21A показана принципиальная схема анализа блокирования "в тандеме" фосфатидилсерина (PS)-hTIM3. На фиг. 21B показано блокирование связывания hTIM3-Fc с PS-липосомой некоторыми антителами к TIM3, как измерено с помощью анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3, показанного на фиг. 21A.

На фиг. 22 показана сводная информация о функциональной активности различных антител к TIM3 (например, TIM3.5, TIM3.4, TIM3.2, TIM3.9, 9F6, TIM3.8 и TIM3.6). Представлены данные для анализа связывания, анализа Т-клеток, анализа TIL и анализа блокирования PS-TIM3.

На фиг. 23 представлен список всех номеров SEQ ID с описанием последовательностей, представленных номерами SEQ ID.

На фиг. 24A-24B показана противоопухолевая активность комбинированного введения антител к PD1 и к TIM3 на мышинной модели колоректальной опухоли CT26. На фиг. 24A показан объем опухоли в различные моменты времени после имплантации опухоли мышам (n=10/группа), получавшим (i) контрольное IgG (верхняя левая панель), (ii) только антитело RMT3-23 к TIM3 (верхняя правая панель), (iii) только антитело RMP1-14 к PD1 (нижняя левая панель) и (iv) комбинацию антител RMT3-23 к TIM3 и RMP1-14 к PD1 (нижняя правая панель). На фиг. 24B показан средний объем опухоли по отношению к времени (дням после имплантации опухоли) у мышей, которым вводили (i) только антитело RMT3-23 к TIM3, (ii) только антитело AbM к TIM3, (iii) только антитело RMP1-14 к PD1, (iv) комбинацию антител RMT3-23 к TIM3 и RMP1-14 к PD1, (v) комбинацию антител Ab M к TIM3 и RMP1-14 к PD1 и (vi) изотипическое контрольное антитело.

На фиг. 25 показан перечень общих пептидов hTIM-3, которые использовали для картирования эпитопов антител к TIM3 (13A3 и 3G4) с использованием масс-спектрометрии водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS). Каждый столбик обозначает пептический пептид. Обведенные кружком остатки (т.е. N99, T145 и N172) указывают на сайты гликозилирования.

На фиг. 26 показаны области связывания TIM3 человека антител к TIM3 (13A3 и 3G4), идентифицированных с использованием HDX-MX. На верхней панели показана область связывания антитела 13A3 к TIM3. На нижней панели показана область связывания антитела 3G4 к TIM4.

На фиг. 27А-27В показаны результаты анализа Скэтчарда TIM3.18.IgG1.3 для клеток СНО, эктопически экспрессирующих TIM3 человека или яванского макака. На фиг. 27А показана стандартная кривая ¹²⁵I-антитела к TIM3. На фиг. 27В показано количество антитела TIM3.18.IgG1.3, связанного с клетками СНО, экспрессирующими TIM3 человека (левая панель) и яванского макака (правая панель).

На фиг. 28 показаны результаты анализа Скэтчарда TIM3.18.IgG1.3 для активированных клеток Th1 от двух доноров (левая и правая панели).

На фиг. 29А и 29В показана повышенная пролиферация Fab TIM3.18.IgG1.3 и TIM3.18.IgG1.3 Т-клеток Th1 в анализе совместного культивирования поляризованных Th1/облученных СНО-ОКТ3. На фиг. 29А показана пролиферация Th1-клеток, наблюдаемая с различными концентрациями TIM3.18.IgG1.3, 13A3 ("13A3-g4") или без антител или изотипических контрольных антител (hIgG1.1 и hIgG4). На фиг. 29В показана пролиферация Th1-клеток, наблюдаемая при различных концентрациях Fab TIM3.18.IgG1.3 или без антитела или изотипического контрольного антитела IgG1.3.

На фиг. 30 показано, что антитело TIM3.18.IgG1.3 к TIM3 усиливает пролиферацию Т-клеток Th1 в анализе совместного культивирования поляризованных Th1/облученных СНО-ОКТ3-PD-L1 в комбинации с ниволумабом.

На фиг. 31 показано, что антитело TIM3.18.IgG1.3 к TIM3 усиливает секрецию интерферона-γ в инфилтрирующих опухоли лимфоцитах (TIL) при почечно-клеточной карциноме, стимулированных облученными клетками СНО-ОКТ3.

На фиг. 32 показано, что антитело TIM3.18.IgG1.3 к TIM3 усиливает при раке молочной железы секрецию интерферона-γ TIL, стимулированными облученными клетками СНО-ОКТ3.

На фиг. 33 показана экспрессия CD163, CD206 и TIM3 на макрофагах M0, которые использовали в анализе AlloMLR (реакция смешанной культуры лимфоцитов), результаты которого показаны на фиг. 34.

На фиг. 34 показана пролиферация клеток в анализе AlloMLR, проводимом в присутствии антитела TIM3.18.IgG1.3 к TIM3, изотипического контроля или в отсутствие антитела.

Фиг. 35 представляет собой ленточную диаграмму структуры комплекса TIM3:TIM3.18 Fab, как определено посредством кристаллографии. Фрагмент Fab показан светло-серым, а TIM3 - темно-серым.

На фиг. 36 показана структура комплекса TIM3:TIM3.18 Fab, как определено посредством кристаллографии. Фрагмент Fab показан в виде ленточной диаграммы. Изображения TIM3 представлено с белой поверхностью с контактными остатками Fab, изображенными темно-серым.

Фиг. 37 представляет собой диаграмму анализа, который использовали для измерения потенциальной интернализации антителами к TIM3.

На фиг. 38 показано, что антитела 13A3 к TIM3 (нижняя левая панель) и некоторые их варианты (D101E - верхняя левая панель; N60Q - верхняя правая панель) не запускают опосредованную рецептором интернализацию (т.е. TIM3).

На фиг. 39А и 39В показана ленточная диаграмма, изображающая эпитопы антител 13A3 к TIM3 (фиг. 39А) и 3G4 (фиг. 39В). Аминокислотные последовательности эпитопов для каждого из антител представлены ниже ленточной диаграммы. Различные паттерны идентифицируют конкретные области антител к TIM3, которые соответствуют конкретным эпитопам.

Подробное описание настоящего раскрытия

Для того чтобы настоящее описание могло быть более легко понято, сначала определяются определенные термины. Дополнительные определения изложены в подробном описании.

Следует отметить, что объект в единственном числе относится к одному или нескольким объектам; например, под "нуклеотидной последовательностью" понимают одну или несколько нуклеотидных последовательностей. Как таковые, термины "один или несколько" и "по меньшей мере один" могут использоваться в настоящем документе взаимозаменяемо.

Кроме того, "и/или" при использовании в настоящем документе следует понимать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим или без него. Таким образом, термин "и/или", используемый в такой фразе, как "А и/или В", предназначен для включения в него "А и В", "А или В", "А" (отдельно) и "В" (отдельно). Аналогично, термин "и/или", используемый в такой фразе, как "А, В и/или С", предназначен для охвата каждого из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно) и С (отдельно).

Понятно, что везде, где в настоящем документе аспекты описаны на языке "содержащий", также обеспечиваются аналогичные аспекты, описанные в терминах "состоящий из" и/или "состоящий по существу из".

Если не определено иначе, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, характеризуются тем же значением, которое обычно понимают специалисты в области техники, к которой относится настоящее раскрытие. Например, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999,

Academic Press и Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press, предоставляет специалисту общий словарь многих терминов, использованных в настоящем раскрытии.

Единицы, префиксы и символы обозначаются в их принятой форме Systeme International de Unites (SI). Числовые диапазоны включают в себя числа, определяющие диапазон. Если не указано иное, нуклеотидные последовательности пишутся слева направо в ориентации 5'-3'. Аминокислотные последовательности пишутся слева направо в ориентации аминокислотной группы. Заголовки, представленные в настоящем документе, не являются ограничениями различных аспектов настоящего раскрытия, которые могут быть получены со ссылкой на описание в целом. Соответственно, термины, определенные непосредственно ниже, более полно определены посредством ссылки на полное описание.

Термин "приблизительно" используется в настоящем документе для обозначения приблизительно, примерно, около или в областях. Когда термин "приблизительно" используется в комбинации с числовым диапазоном, он изменяет этот диапазон, расширяя границы выше и ниже указанных числовых значений. Как правило, термин "приблизительно" может изменять числовое значение выше и ниже заявленного значения путем отклонения, например, на 10 процентов, вверх или вниз (выше или ниже).

Используемый в настоящем документе термин "белок 3, содержащий Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина" или "TIM3" относится к рецептору, который является представителем семейства белков Т-клеточного иммуноглобулина и домена муцина (TIM). Первичный лиганд для TIM3 включает в себя фосфатидилсерин (TIM3-L). TIM3 также называют клеточным рецептором 2 вируса гепатита А (HAVCR2), муциновым рецептором 3 иммуноглобулина Т-клеток, TIM-3, TIMD3, TIMD-3, молекулой 3 почечной травмы, KIM-3 и CD366. Термин "TIM3" включает в себя любые варианты или изоформы TIM3, которые естественным образом экспрессируются клетками. Соответственно, описанные в настоящем документе антитела могут перекрестно реагировать с TIM3 от видов, отличных от человека (например, TIM3 яванского макака). Альтернативно, антитела могут быть специфическими к TIM3 человека и не проявлять перекрестной реактивности с другими видами. TIM3 или любые его варианты и изоформы могут быть выделены из клеток или тканей, которые их естественным образом экспрессируют, или могут быть получены рекомбинантным способом с использованием хорошо известных в настоящей области техники и/или описанных в настоящем документе способов.

Были идентифицированы две изоформы TIM3 человека. Изоформа 1 (номер доступа NP_116171; SEQ ID NO: 286) состоит из 301 аминокислоты и представляет собой каноническую последовательность. Изоформа 2 (номер доступа AAN20843; SEQ ID NO: 287) состоит из 142 аминокислот и является растворимой. В ней отсутствуют аминокислотные остатки 143-301, которые кодируют трансмембранный домен, цитоплазматический домен и часть внеклеточного домена TIM3. Аминокислотные остатки 132-142 также отличаются от канонической последовательности, описанной выше.

Ниже представлены аминокислотные последовательности двух известных изоформ TIM3 человека.

(А) Изоформа 1 TIM3 человека (номер доступа NP_116171; SEQ ID NO: 286; кодируется нуклеотидной последовательностью, имеющей номер доступа NM_032782.4; SEQ ID NO: 288; фиг. 20):

MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRLRSSEVEYRAEVLGQAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECG
 NVVLRDTERDVNYWTSRYWLNGLDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLV
 IKPAKVTAPTRQRDFTAAFPRLMTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDL
 RDSGATIRIGIYGAGICAGLALALIFGALIFKQWYSHSKEKIQNLSLISLANLPPSGLANAVAE
 GIRSEENIYTIENVEVEEPEYCYVSSRQPPSQPLGCRFAMP

(В) Изоформа 2 TIM3 человека (номер доступа AAN20843; SEQ ID NO: 287; кодируется нуклеотидной последовательностью, имеющей номер доступа BC020843.1; SEQ ID NO: 289):

MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRLRSSEVEYRAEVLGQAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECG
 NVVLRDTERDVNYWTSRYWLNGLDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLV
 IKPGEWTFACHLYE

Сигнальная последовательность изоформ 1 и 2 соответствует аминокислотам 1-21 (подчеркнуты). Таким образом, зрелые изоформы 1 и 2 состоят из аминокислот от 22 до 301 или 142, соответственно. Внеклеточный зрелый домен TIM3 человека состоит из аминокислот 22-202 SEQ ID NO: 286 и характеризуется аминокислотной последовательностью:

SEVEYRAEVLGQAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGNVVLRDTERDVNYWTSRYWLN
 GDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIKPAKVTAPTRQRDFTAAFP
 RMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIG (SEQ ID NO:
 290).

Белок TIM3 яванского макака состоит из следующей аминокислотной последовательности (включая в себя сигнальную последовательность):

MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYIAEVGQNAYLPCSYPAPPGNLVPVCWKGACPVFDCS
 NVVLRTEENRDVNDRTSGRYWLKGFHKGDVSLTIENVTLADSGVYCCRIQIPGIMNDEKHNLKL
 VVIKPAKVTPAPTLQRDLTSAFPRMLTTGENGPAETQTPGSLPDVNLQIFTLTNELRDSGATI
 RTAIYIAAGISAGLALALIFGALIFKWYSHSKEKTQNLSLISLANIPPSGLANAVAEGIRSEEN
 IYTIIEEDVYEEVEEPNEYCYVSSGQQPSQPLGCRFAMP (SEQ ID NO: 360)

Термин "антитело" относится, согласно одному варианту осуществления, к белку, содержащему по меньшей мере две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные между собой дисульфидными связями. Каждая тяжелая цепь состоит из варибельной области тяжелой цепи (сокращенно обозначенной в настоящем документе как VH) и константной области тяжелой цепи (сокращенно обозначенной в настоящем документе как CH). В некоторых антителах, например, встречающихся в природе антителах IgG, константная область тяжелой цепи состоит из шарнира и трех доменов, CH1, CH2 и CH3. В некоторых антителах, например, встречающихся в природе антителах IgG, каждая легкая цепь состоит из варибельной области легкой цепи (сокращенно обозначенной в настоящем документе как VL) и константной области легкой цепи. Константная область легкой цепи состоит из одного домена (сокращенно обозначенного в настоящем документе как CL). Области VH и VL могут быть дополнительно подразделены на области гиперварибельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), перемежающимися с областями, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждая VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Варибельные области тяжелой и легкой цепей содержат связывающий домен, который взаимодействует с антигеном. Константные области антител могут опосредовать связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая в себя различные клетки иммунной системы (например, эффекторные клетки) и первый компонент (C1q) классической системы комплемента. Тяжелая цепь может содержать С-концевой лизин или не содержать его. Если в настоящем документе не указано иное, аминокислоты в варибельных областях пронумерованы с использованием системы нумерации Kabat, а аминокислоты в константных областях пронумерованы с использованием системы EU.

Используемое в настоящем документе "антитело IgG", например, человеческое антитело IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, согласно определенным вариантам осуществления характеризуется структурой встречающегося в природе антитела IgG, т.е. оно содержит такое же количество тяжелых и легких цепей и дисульфидные связи как и природное антитело IgG того же подкласса. Например, антитело IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 к ТИМ3 состоит из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), причем две тяжелые цепи и легкие цепи связаны одним и тем же числом и расположением дисульфидных мостиков, которые встречаются в природных антителах IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, соответственно (если только антитело не было мутировано для модификации дисульфидных мостиков).

Антитела, как правило, специфически связываются со своим родственным антигеном с высокой аффинностью, отражаемой константой диссоциации (K_D) от 10^{-5} до 10^{-11} М или менее. Как правило, считается, что любая K_D , превышающая приблизительно 10^{-4} М, указывает на неспецифическое связывание. Используемое в настоящем документе антитело, которое "специфически связывается" с антигеном, относится к антителу, которое связывается с антигеном и по существу идентичными антигенами с высокой аффинностью, что означает K_D 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 5×10^{-9} М или менее или от 10^{-8} М до 10^{-10} М или менее, но не связывается с высоким сродством с неродственными антигенами. Антиген является "по существу идентичным" данному антигену, если он проявляет высокую степень идентичности последовательности с данным антигеном, например, если он проявляет идентичность последовательности, составляющую по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97% или по меньшей мере 99%, по отношению к последовательности данного антигена. Например, антитело, которое специфически связывается с ТИМ3 человека, может согласно некоторым вариантам осуществления также характеризоваться перекрестной реактивностью с антигенами ТИМ3 от определенных видов приматов (например, ТИМ3 яванского макака), но не может перекрестно реагировать с антигенами ТИМ3 от других видов или с антигеном, отличным от ТИМ3.

Иммуноглобулин может быть из любого широко известного изотипа, включая в себя, но без ограничения, IgA, секреторный IgA, IgG и IgM. Изотип IgG подразделяется на подклассы у определенных видов: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 у людей и IgG1, IgG2a, IgG2b и IgG3 у мышей. Согласно определенным вариантам осуществления антитела к ТИМ3, описанные в настоящем документе, характеризуются подтипом IgG1. Иммуноглобулины, например, IgG1, существуют в нескольких аллотипах, которые отличаются друг от друга не более чем несколькими аминокислотами. "Антитело" включает в себя в качестве примера как встречающиеся в природе, так и не встречающиеся в природе антитела; моноклональные и поликлональные антитела; химерные и гуманизированные антитела; человеческие и отличные от человеческих антитела и полностью синтетические антитела.

Используемый в настоящем документе термин "антигенсвязывающая часть" антитела относится к одному или нескольким фрагментам антитела, которые сохраняют способность специфически связы-

ваться с антигеном (например, ТИМЗ человека). Было показано, что антигенсвязывающая функция антитела может выполняться фрагментами полноразмерного антитела. Примеры связывающих фрагментов, охватываемых термином "антигенсвязывающая часть" антитела, например, описанного в настоящем документе антитела к ТИМЗ, включают в себя (i) фрагмент Fab (фрагмент от расщепления папаином) или подобный одновалентный фрагмент, состоящий из доменов V_L , V_H , LC и CH1; (ii) фрагмент F(ab')₂ (фрагмент от расщепления пепсином) или аналогичный двухвалентный фрагмент, содержащий два фрагмента Fab, связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области; (iii) фрагмент Fd, состоящий из доменов V_H и CH1; (iv) фрагмент Fv, состоящий из доменов V_L и V_H одного плеча антитела, (v) фрагмент dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), который состоит из домена V_H ; (vi) выделенная определяющая комплементарность область (CDR) и (vii) комбинация двух или более выделенных CDR, которые могут быть необязательно соединены синтетическим линкером. Кроме того, хотя два домена фрагмента Fv, V_L и V_H , кодируются отдельными генами, они могут быть объединены с использованием рекомбинантных способов с помощью синтетического линкера, который позволяет им быть образованными в виде единой белковой цепи, в которой области V_L и V_H образуют пару, образуя одновалентные молекулы (известные как одноцепочечные 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). Такие одноцепочечные антитела также предназначены для включения в термин "антигенсвязывающая часть" антитела. Эти фрагменты антител получают с использованием общепринятых техник, известных специалистам в настоящей области техники, и фрагменты проверяют на пригодность таким же образом, как и интактные антитела. Антигенсвязывающие части могут быть получены способами рекомбинантной ДНК или ферментативным или химическим расщеплением интактных иммуноглобулинов.

"Биспецифическое" или "бифункциональное антитело" представляет собой искусственное гибридное антитело, содержащее две разные пары тяжелой/легкой цепи и два разных сайта связывания. Биспецифические антитела могут быть получены различными способами, включающими в себя слияние гибридом или связывание фрагментов Fab'. Смотрите, например, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992).

Используемый в настоящем документе термин "моноклональное антитело" относится к антителу из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, содержащиеся в популяции, по существу сходны и связываются с одним и тем же эпитопом(ами) (например, антитела проявляют единственную специфичность и аффинность связывания), за исключением возможных вариантов, которые могут возникнуть во время производства моноклонального антитела, такие варианты, как правило, присутствуют в незначительных количествах. Модификатор "моноклональный" указывает на характер антитела, получаемого по существу из гомогенной популяции антител, и его не следует истолковывать как требующий получения антитела каким-либо конкретным способом. Термин "человеческое моноклональное антитело" относится к антителу из популяции по существу гомогенных антител, которые проявляют специфичность связывания и которые содержат переменные и необязательные константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Согласно одному варианту осуществления моноклональные антитела человека производятся гибридомой, которая включает в себя В-клетку, полученную от трансгенного отличного от человека животного, например, трансгенной мыши, характеризующейся наличием генома, содержащего трансген тяжелой цепи человека и трансген легкой цепи, слитый с иммортализованной клеткой.

Используемый в настоящем документе термин "рекомбинантное человеческое антитело" включает в себя все человеческие антитела, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют рекомбинантными способами, такие как (a) антитела, выделенные из животного (например, мыши), которое является трансгенным или трансхромосомным для генов иммуноглобулина человека или полученных из них гибридом, (b) антитела, выделенные из клетки-хозяина, трансформированной для экспрессии антитела, например, из трансфектомы, (c) антитела, выделенные из рекомбинантной библиотеки комбинаторных антител человека, и (d) антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые включают в себя сплайсинг последовательностей гена человеческого иммуноглобулина в другие последовательности ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела содержат переменные и константные области, в которых используются определенные последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, которые кодируются генами зародышевой линии, но включают в себя последующие реаранжировки и мутации, которые возникают, например, во время созревания антител.

Как известно в настоящей области техники (см., например, Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9): 1117-1125), переменная область содержит антигенсвязывающий домен, который кодируется различными генами, которые реаранжируются с образованием антитела, специфического для чужеродного антигена. В дополнение к реаранжировке переменная область может быть дополнительно модифицирована путем множественных изменений одной аминокислоты (называемых соматической мутацией или гипермутацией) для увеличения аффинности антитела к чужеродному антигену. Константная область будет изменяться при дальнейшем ответе на антиген (т.е. переключение изотипа). Следовательно, реаранжированные и соматически мутированные молекулы нуклеиновой кислоты, которые кодируют легкую цепь и

тяжелую цепь полипептида иммуноглобулина в ответ на антиген, не могут характеризоваться идентичностью последовательности с исходными молекулами нуклеиновой кислоты, но вместо этого будут по существу идентичными или сходными (т.е. характеризоваться идентичностью, составляющей по меньшей мере 80%).

"Человеческое" антитело (HuMAb) относится к антителу, содержащему переменные области, в которых как каркасные области, так и области CDR получены из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Кроме того, если антитело содержит константную область, константная область также происходит из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека. Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 могут включать в себя аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии человека (например, мутации, введенные путем случайного или сайт-специфического мутагенеза *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*). Однако используемый в настоящем документе термин "человеческое антитело" не предназначен для включения антител, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающих, таких как мышь, были привиты на каркасные последовательности человека. Термины "человеческие" антитела и "полностью человеческие" антитела используются как синонимы.

"Гуманизированное" антитело относится к антителу, в котором некоторые, большинство или все аминокислоты вне доменов CDR отличного от человеческого антитела заменены соответствующими аминокислотами, полученными из иммуноглобулинов человека. Согласно одному варианту осуществления гуманизированной формы антитела некоторые, большинство или все аминокислоты вне доменов CDR были заменены аминокислотами из иммуноглобулинов человека, тогда как некоторые, большинство или все аминокислоты в одной или нескольких областях CDR являются неизменными. Небольшие добавления, делеции, вставки, замены или модификации аминокислот допустимы, если они не отменяют способность антитела связываться с конкретным антигеном. "Гуманизированное" антитело сохраняет антигенную специфичность, сходную со специфичностью исходного антитела.

"Химерное антитело" относится к антителу, в котором переменные области происходят от одного вида, а константные области происходят от другого вида, такого как антитело, в котором переменные области происходят от антитела мыши, а константные области происходят от антитела человека.

Используемый в настоящем документе термин "изотип" относится к классу антител (например, антитело IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD и IgE), которые кодируются генами константной области тяжелой цепи.

Термин "аллотип" относится к встречающимся в природе вариантам внутри конкретной группы изотипов, которые отличаются по нескольким аминокислотам (см., например, Jefferis et al. (2009) mAbs 1:1). Антитела к TIM3, описанные в настоящем документе, могут быть любого аллотипа. Используемые в настоящем документе антитела, обозначаемые как изотип "IgG1f", "IgG1.1f" или "IgG1.3f", представляют собой антитела IgG1, IgG1.1 без эффекторных функций и IgG1.3 без эффекторных функций, соответственно, аллотипа "f", т.е. содержащие 214R, 356E и 358M в соответствии с индексом EU, как в Kabat, как показано, например, в SEQ ID NO: 3.

Фразы "распознающее антиген антитело" и "специфическое к антигену антитело" используются в настоящем документе взаимозаменяемо с термином "антитело, которое специфически связывается с антигеном".

Используемое в настоящем документе "выделенное антитело" предназначено для обозначения антитела, которое по существу не содержит других белков и клеточного материала.

Используемое в настоящем документе антитело, которое "ингибирует связывание TIM3-L с TIM3", относится к антителу, которое ингибирует связывание TIM3 с его лигандом, например, фосфатидилсерин, например, в анализах связывания с использованием трансфицированных клеток CHO с TIM3 человека или экспрессирующими TIM3 активированными Т-клетками человека, с EC₅₀ приблизительно 1 мкг/мл или менее, например, приблизительно 0,9 мкг/мл или менее, приблизительно 0,85 мкг/мл или менее, приблизительно 0,8 мкг/мл или менее, приблизительно 0,75 мкг/мл или менее, приблизительно 0,7 мкг/мл или менее, приблизительно 0,65 мкг/мл или менее, приблизительно 0,6 мкг/мл или менее, приблизительно 0,55 мкг/мл или менее, приблизительно 0,5 мкг/мл или менее, приблизительно 0,45 мкг/мл или менее, приблизительно 0,4 мкг/мл или менее, приблизительно 0,35 мкг/мл или менее, приблизительно 0,3 мкг/мл или менее, приблизительно 0,25 мкг/мл или менее, приблизительно 0,2 мкг/мл или менее, приблизительно 0,15 мкг/мл или менее, приблизительно 0,1 мкг/мл или менее или приблизительно 0,05 мкг/мл или менее, в известных в настоящей области техники способах, например, описанных в настоящем документе анализах связывания на основе FACS.

"Эффекторная функция" относится к взаимодействию области Fc антитела с Fc-рецептором или лигандом или биохимическому событию, которое возникает в результате этого. Иллюстративные "эффекторные функции" включают в себя связывание C1q, комплемент-зависимую цитотоксичность (CDC), связывание Fc-рецептора, FcγR-опосредованные эффекторные функции, такие как ADCC и антитело-зависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (ADCP), и подавление рецептора на клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора; BCR). Такие эффекторные функции, как правило, требуют, чтобы область Fc была объединена с доменом связывания (например, переменным доменом антитела).

"Fc-рецептор" или "FcR" представляет собой рецептор, который связывается с областью Fc иммуноглобулина. FcR, которые связываются с антителом IgG, содержат рецепторы семейства FcγR, включая в себя аллельные варианты и альтернативно сплайсированные формы этих рецепторов. Семейство FcγR состоит из трех активирующих (FcγRI, FcγRII и FcγRIII у мышей; FcγRIA, FcγRIIA и FcγRIIA у людей) и одного ингибирующего (FcγRIIB) рецептора. Различные свойства человеческих FcγR известны в настоящей области техники. Большинство типов врожденных эффекторных клеток коэкспрессируют один или несколько активирующих FcγR и ингибирующий FcγRIIB, тогда как клетки натуральных киллеров (NK) избирательно экспрессируют один активирующий Fc-рецептор (FcγRIII у мышей и FcγRIIA у людей), но не ингибирующий FcγRIIB у мышей и людей. Человеческий IgG1 связывается с большинством человеческих Fc-рецепторов и считается эквивалентным мышинному IgG2a в отношении типов активирующих Fc-рецепторов, с которыми он связывается.

Термин "область Fc" (область кристаллизации фрагмента) или "домен Fc", или "Fc" относится к C-концевой области тяжелой цепи антитела, которая опосредует связывание иммуноглобулина с тканями или факторами хозяина, включая в себя связывание с Fc-рецепторами, расположенными на различных клетках иммунной системы (например, эффекторных клетках) или с первым компонентом (C1q) классической системы комплемента. Таким образом, область Fc содержит константную область антитела, включая первый домен константной области иммуноглобулина (например, CH1 или CL).

В изоформах антител IgG, IgA и IgD область Fc содержит два идентичных фрагмента белка, полученных из второго (CH2) и третьего (CH3) константных доменов двух тяжелых цепей антитела; области Fc IgM и IgE содержат три константных домена тяжелой цепи (домены CH 2-4) в каждой полипептидной цепи. Для IgG область Fc содержит домены иммуноглобулина CH2 и CH3 и шарнир между доменами CH1 и CH2. Хотя определение границ области Fc тяжелой цепи иммуноглобулина может варьировать, как определено в настоящем документе, область Fc тяжелой цепи IgG человека определяется как протянутая от аминокислотного остатка D221 для IgG1, V222 для IgG2, L221 для IgG3 и P224 для IgG4 к карбокси-концу тяжелой цепи, причем нумерация соответствует индексу Eu, как в Kabat. Домен CH2 области Fc IgG человека простирается от аминокислоты 237 до аминокислоты 340, а домен CH3 располагается на C-концевой стороне домена CH2 в области Fc, т.е. он простирается от аминокислоты 341 до аминокислоты 447 или 446 (если C-концевой остаток лизина отсутствует) или 445 (если C-концевые остатки глицина и лизина отсутствуют) IgG. Как используется в настоящем документе, область Fc может представлять собой нативную последовательность Fc, включая в себя любой аллотипический вариант, или вариант Fc (например, не встречающийся в природе Fc). Fc также может относиться к этой области выделенно или в контексте Fc-содержащего белкового полипептида, такого как "связывающий белок, содержащий область Fc", также называемого "Fc-слитым белком" (например, антитело или иммуноадгезия).

"Область Fc с нативной последовательностью" или "Fc с нативной последовательностью" содержит аминокислотную последовательность, которая идентична аминокислотной последовательности встречающейся в природе области Fc. Человеческие области Fc с нативной последовательностью включают в себя человеческую область Fc IgG1 с нативной последовательностью; человеческую область Fc IgG2 с нативной последовательностью; человеческую область Fc IgG3 с нативной последовательностью и человеческую область Fc IgG4 с нативной последовательностью, а также встречающиеся в природе ее варианты. Fc с нативной последовательностью включает в себя различные аллотипы Fc (см., например, Jafferis et al. (2009) mAbs 1: 1).

Термин "эпитоп" или "антигенная детерминанта" относится к сайту на антигене (например, TIM3), с которым специфически связывается иммуноглобулин или антитело, например, как определено конкретным способом, используемым для его идентификации. Эпитопы могут быть образованы как из смежных аминокислот (как правило, линейный эпитоп), так и из несмежных аминокислот, расположенных рядом посредством третичного складывания белка (как правило, конформационный эпитоп). Эпитопы, образованные из смежных аминокислот, как правило, но не всегда, сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, образованные третичным складыванием, как правило, теряются при обработке денатурирующими растворителями. Эпитоп, как правило, включает в себя по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 аминокислот в уникальной пространственной конформации. Способы определения того, какие эпитопы связаны с данным антителом (т.е. картирование эпитопов), хорошо известны в настоящей области техники и включают в себя, например, анализы иммуноблоттинга и иммунопреципитации, в которых перекрывающиеся или смежные пептиды (например, из TIM3) исследуют на реактивность с данным антителом (например, антителом к TIM3). Способы определения пространственной конформации эпитопов включают в себя способы в настоящей области техники и способы, описанные в настоящем документе, например, рентгеновскую кристаллографию, антигенный мутационный анализ, двумерный ядерный магнитный резонанс и HDX-MS (см., например, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)).

Термин "картирование эпитопов" относится к процессу идентификации молекулярных детерминант для распознавания антитело-антиген.

Термин "связывается с одним и тем же эпитопом" со ссылкой на два или более антител означает, что антитела связываются с одним и тем же сегментом аминокислотных остатков, как определено данным способом. Способы определения того, связываются ли антитела с "тем же эпитопом на ТИМЗ", что и описанные в настоящем документе антителами, включают в себя, например, способы картирования эпитопов, такие как рентгеноструктурный анализ кристаллов комплексов антиген: антитело, который обеспечивает атомное разделение эпитопа и масс-спектрометрию водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS). Другие способы контролируют связывание антитела с фрагментами антигена или мутированными вариациями антигена, где потеря связывания из-за модификации аминокислотного остатка в последовательности антигена часто считается показателем эпитопного компонента. Кроме того, также могут быть использованы вычислительные комбинаторные способы картирования эпитопов. Эти способы основаны на способности представляющего интерес антитела аффинно выделять специфические короткие пептиды из пептидных библиотек комбинаторных фаговых дисплеев. Предполагается, что антитела, содержащие одинаковые VH и VL или одинаковые последовательности CDR1, 2 и 3, будут связываться с одним и тем же эпитопом.

Антитела, которые "конкурируют с другим антителом за связывание с мишенью", относятся к антителам, которые ингибируют (частично или полностью) связывание другого антитела с мишенью. Конкурируют ли два антитела друг с другом за связывание с мишенью, т.е. ингибирует ли одно антитело связывание другого антитела с мишенью и в какой степени, можно определить с использованием известных конкурентных экспериментов, например, анализа поверхностного плазмонного резонанса (SPR) BIACORE®. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело конкурирует и ингибирует связывание другого антитела с мишенью по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или 100%. Уровень ингибирования или конкурентирования может быть различным в зависимости от того, какое антитело представляет собой "блокирующее антитело" (т.е. холодное антитело, которое сначала инкубируется с мишенью). Конкурентные анализы можно проводить, как описано, например, в Ed Harlow и David Lane, Cold Spring Harb Protoc; 2006; doi: 10.1101/pdb.prot4277 или в главе 11 "Using Antibodies" by Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999. Два антитела "перекрестно конкурируют", если антитела блокируют каждое другое обоими способами, по меньшей мере на 50%, т.е. независимо от того, контактирует ли одно или другое антитело первым с антигеном в конкурентном эксперименте.

Анализ конкурентного связывания для определения того, конкурируют ли или перекрестно конкурируют два антитела за связывание, включают в себя: конкуренцию за связывание с Т-клетками, экспрессирующими ТИМЗ, например, с помощью проточной цитометрии, такой как описанная в примерах. Другие способы включают в себя: SPR (например, BIACORE®), твердофазный прямой или непрямой радиоиммуноанализ (RIA), твердофазный прямой или непрямой иммуоферментный анализ (EIA), конкурентный сэндвич-анализ (см. Stahli et al., *Methods in Enzymology* 9: 242 (1983)); твердофазный прямой биотин-авидин EIA (см. Kirkland et al., *J. Immunol.* 137: 3614 (1986)); твердофазный прямой меченый анализ, твердофазный прямой меченый сэндвич-анализ (см. Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)); твердофазный прямой меченый RIA с использованием метки 1-125 (см. Morel et al., *Mol. Immunol.* 25(1):7 (1988)); твердофазный прямой биотин-авидин EIA (Cheung et al., *Virology* 176: 546 (1990)) и прямой меченый RIA. (Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990)).

Используемые в настоящем документе термины "специфическое связывание", "селективное связывание", "избирательно связывается" и "специфически связывается" относятся к связыванию антитела с эпитопом на предварительно определенном антигене. Как правило, антитело (i) связывается с равновесной константой диссоциации (K_D), составляющей приблизительно менее чем 10^{-7} М, например, приблизительно менее чем 10^{-8} М, 10^{-9} М или 10^{-10} М или даже ниже при определении посредством, например,

технологии поверхностного плазмонного резонанса (SPR) в приборе BIACORE® 2000 с использованием заранее определенного антигена, например, рекомбинантного ТИМЗ человека в качестве аналита и антитела в качестве лиганда, или анализа Скэтчарда на связывание антитела с антиген-положительными клетками, и (ii) связывается с предварительно определенным антигеном с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза превышает его аффинность к связыванию с неспецифическим антигеном (например, БСА, казеином), отличным от предварительно определенного антигена или близко родственного антигена. Соответственно, антитело, которое "специфически связывается с ТИМЗ человека" относится к антителу, которое связывается с растворимым или связанным с клеткой ТИМЗ человека с K_D 10^{-7} М или менее, таким как приблизительно менее чем 10^{-8} М, 10^{-9} М или 10^{-10} М или даже ниже. Антитело, которое "перекрестно реагирует с ТИМЗ яванского макака", относится к антителу, которое связывается с ТИМЗ яванского макака с KD 10^{-7} М или менее, например, приблизительно менее чем 10^{-8} М, 10^{-9} М или 10^{-10} М или даже ниже. Согласно некоторым вариантам осуществления такие антитела, которые не вступают в перекрестную реакцию с ТИМЗ от отличного от человека вида, демонстрируют по существу необнаружимое связывание с этими белками в стандартных анализах связывания.

Используемый в настоящем документе термин " k_{assoc} " или " k_a " предназначен для обозначения скорости ассоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген, тогда как используемый в настоящем

документе термин " k_{dis} " или " k_d " предназначен для обозначения скорости диссоциации конкретного взаимодействия антитело-антиген. Используемый в настоящем документе термин " K_D " предназначен для обозначения константы диссоциации, которая получается из отношения k_d к k_a (то есть k_d/k_a) и выражается в виде молярной концентрации (М). Значения K_D для антител могут быть определены с использованием хорошо известных в настоящей области техники способов. Доступные способы определения K_D антитела включают в себя поверхностный плазмонный резонанс, биосенсорную систему, такую как система BIACORE®, или проточную цитометрию и анализ Скэтчарда.

Используемый в настоящем документе термин "высокая аффинность" для антитела IgG относится к антителу, характеризующемуся K_D 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М или менее или 10^{-10} М или менее для антигена-мишени. Однако "высоко аффинное" связывание может варьировать для других изотипов антител. Например, "высоко аффинное" связывание для изотипа IgM относится к антителу, характеризующемуся K_D 10^{-10} М или менее или 10^{-8} М или менее.

Термин "ЕС₅₀" в контексте анализа *in vitro* или *in vivo* с использованием антитела или его антигенсвязывающего фрагмента относится к концентрации антитела или его антигенсвязывающей части, которая индуцирует ответ, который составляет 50% от максимального ответа, т.е. находится посередине между максимальным ответом и исходным значением. Используемый в настоящем документе термин "встречающийся в природе", применительно к объекту, относится к тому факту, что объект может быть обнаружен в природе. Например, полипептидная или полинуклеотидная последовательность, которая присутствует в организме (включая в себя вирусы), которая может быть выделена из источника в природе и которая не была преднамеренно изменена человеком в лаборатории, представляет собой встречающуюся в природе.

Термин "полипептид" относится к цепи, содержащей по меньшей мере два последовательно связанных аминокислотных остатка без верхнего предела длины цепи. Один или несколько аминокислотных остатков в белке могут содержать модификацию, такую как, но без ограничения, гликозилирование, фосфорилирование или образование дисульфидной связи. "Белок" может содержать один или несколько полипептидов.

Предполагается, что используемый в настоящем документе термин "молекула нуклеиновой кислоты" предназначен для включения молекул ДНК и молекул РНК. Молекула нуклеиновой кислоты может быть одноцепочечной или двухцепочечной и может представлять собой кДНК.

Термин "консервативные аминокислотные замены" относится к заменам аминокислотного остатка на аминокислотный остаток, характеризующийся сходной боковой цепью. Семейства аминокислотных остатков, характеризующихся сходными боковыми цепями, были определены в настоящей области техники. Эти семейства включают в себя 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, триптофан), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Согласно некоторым вариантам осуществления предсказанный заменимый аминокислотный остаток в антителе к ТИМЗ заменяется другим аминокислотным остатком из того же семейства боковых цепей. Способы идентификации нуклеотидных и аминокислотных консервативных замен, которые не устраняют связывание антигена, хорошо известны в настоящей области техники (см., например, Brummell et al., *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al. *Protein Eng.* 12 (10): 879-884 (1999) и Burks et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 412-417 (1997)).

Для нуклеиновых кислот термин "существенная гомология" указывает на то, что две нуклеиновые кислоты или их обозначенные последовательности, когда они оптимально выровнены и сравнены, являются идентичными с соответствующими вставками или делециями нуклеотидов, по меньшей мере приблизительно на 80% нуклеотидов, по меньшей мере приблизительно от 90% до 95% или по меньшей мере приблизительно от 98 до 99,5% нуклеотидов. Альтернативно, существенная гомология существует, когда сегменты будут гибридизоваться в условиях селективной гибридизации с комплементом цепи.

Для полипептидов термин "существенная гомология" указывает на то, что два полипептида или их обозначенные последовательности, когда они оптимально выровнены и сравнены, являются идентичными с соответствующими аминокислотными вставками или делециями по меньшей мере приблизительно на 80% аминокислот, по меньшей мере приблизительно от 90 до 95% или по меньшей мере приблизительно от 98 до 99,5% аминокислот.

Процент идентичности между двумя последовательностями представляет собой функцию количества идентичных положений, совместно используемых последовательностями (т.е., % гомологии = количество идентичных положений/общее количество положений × 100), принимая во внимание количество пропусков и длину каждого пропуска, который необходимо ввести для оптимального выравнивания двух последовательностей. Сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями может быть выполнено с использованием математического алгоритма, как

описано в неограничивающих примерах ниже.

Процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями может быть определен с использованием программы GAP в пакете программного обеспечения GCG (доступна по адресу worldwideweb.gcg.com), с использованием матрицы NWSgapdna.CMP и штрафом за открытие пропуска 40, 50, 60, 70 или 80 и штрафом за удлинение пропуска 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Процент идентичности между двумя нуклеотидными или аминокислотными последовательностями также можно определить с помощью алгоритма Э. Мейерса и У. Миллера (CABIOS, 4: 11-17 (1989)), который был включен в программу ALIGN (версия 2.0), с использованием таблицы весов замен остатков PAM120, штрафом за удлинение пропуска 12 и штрафом за пропуск в последовательности 4. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями может быть определен с использованием алгоритма Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)), который включен в программу GAP в программном обеспечении GCG (доступном по адресу <http://www.gcg.com>), с использованием либо матрицы Blossum 62, либо матрицы PAM250, и штрафом за открытие пропуска 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4 и штрафом за удлинение пропуска 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

Описанные в настоящем документе последовательности нуклеиновых кислот и белков могут дополнительно использоваться в качестве "запрашиваемой последовательности" для выполнения поиска в общедоступных базах данных, например, для идентификации родственных последовательностей. Такие поиски могут быть выполнены с использованием программ NBLAST и XBLAST (версия 2.0) Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10. Поиски нуклеотидов BLAST могут быть выполнены с помощью программы NBLAST, оценка = 100, длина слова = 12, чтобы получить нуклеотидные последовательности, гомологичные молекулам нуклеиновой кислоты, описанным в настоящем документе. Поиски белка BLAST могут быть выполнены с помощью программы XBLAST, оценка = 50, длина слова = 3, чтобы получить аминокислотные последовательности, гомологичные молекулам белка, описанным в настоящем документе. Для получения выравнивания с пропусками для сравнения можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402. При использовании программ BLAST и Gapped BLAST могут использоваться параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST). Смотрите worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov.

Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в целых клетках, в клеточном лизате или в частично очищенной или по существу чистой форме. Нуклеиновая кислота является "выделенной" или "становится практически чистой", когда очищается от других клеточных компонентов или других загрязнений, например, других клеточных нуклеиновых кислот (например, других частей хромосомы) или белков, стандартными способами, включая в себя обработку щелочью/SDS, бэндинг CsCl, колоночную хроматографию, электрофорез в агарозном геле и другие, хорошо известные в настоящей области техники. Смотрите F. Ausubel, et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987).

Нуклеиновые кислоты, например, кДНК, могут быть мутированы в соответствии со стандартными способами для обеспечения последовательностей генов. Для кодирующих последовательностей эти мутации могут влиять на аминокислотную последовательность по желанию. В частности, рассматриваются последовательности ДНК, по существу гомологичные или происходящие из нативных V, D, J, констант, переключателей и других подобных последовательностей, описанных в настоящем документе (где "происходящий" означает, что последовательность идентична или модифицирована из другой последовательности).

Используемый в настоящем документе термин "вектор" предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, способной транспортировать другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Один тип вектора представляет собой "плазмиду", которая относится к кольцевой двухцепочечной петле ДНК, в которую могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Другим типом вектора является вирусный вектор, в котором дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Определенные векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальный источник репликации, и эписомальные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, неэписомальные векторы млекопитающих) могут быть интегрированы в геном клетки-хозяина при введении в клетку-хозяина и, таким образом, реплицируются вместе с геномом-хозяином. Более того, некоторые векторы способны направлять экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. Такие векторы упоминаются в настоящем документе как "рекомбинантные векторы экспрессии" (или просто "векторы экспрессии"). В общем, векторы экспрессии, используемые в способах рекомбинантной ДНК, часто находятся в форме плазмид. В настоящем описании "плазида" и "вектор" могут использоваться взаимозаменяемо, поскольку плазида представляет собой наиболее часто используемую форму вектора. Однако также включены другие формы векторов экспрессии, такие как вирусные векторы (например, дефектные по репликации ретровирусы, аденовирусы и аденоассоциированные вирусы), которые выполняют эквивалентные функции.

Используемый в настоящем документе термин "рекомбинантная клетка-хозяин" (или просто "клетка-хозяин") предназначен для обозначения клетки, которая содержит нуклеиновую кислоту, которая в природе не присутствует в клетке и может представлять собой клетку, в которую рекомбинантный век-

тор экспрессии был введен. Следует понимать, что такие термины предназначены для обозначения не только конкретной клетки субъекта, но и потомства такой клетки. Поскольку определенные модификации могут происходить в последующих поколениях из-за мутации или влияния окружающей среды, такое потомство, фактически, не может быть идентичным исходной клетке, но все же включено в объем используемого в настоящем документе термина "клетка-хозяин".

"Иммунный ответ" представляет собой то, что понимается в настоящей области техники и, как правило, относится к биологическому ответу у позвоночного на чужеродные или аномальные, например, раковые клетки, который защищает организм от этих агентов и вызванных ими заболеваний. Иммунный ответ опосредуется действием одной или нескольких клеток иммунной системы (например, Т-лимфоцита, В-лимфоцита, клетки натурального киллера (NK), макрофага, эозинофила, тучной клетки, дендритной клетки или нейтрофила) и растворимых макромолекул, производимых любой из этих клеток или печени (включая в себя антитела, цитокины и комплемент), что приводит к селективному нацеливанию, связыванию, повреждению, уничтожению и/или удалению из организма позвоночных патогенных микроорганизмов, клеток или тканей, инфицированных патогенами, раковыми или другими аномальными клетками или, в случаях аутоиммунитета или патологического воспаления, нормальными клетками или тканями человека. Иммунная реакция включает в себя, например, активацию или ингибирование Т-клетки, например, эффекторной Т-клетки, Th-клетки, CD4⁺ клетки, CD8⁺ Т-клетки или Treg-клетки, или активацию или ингибирование любой другой клетки иммунной системы, например, NK-клетки.

Термин "иммуномодулятор" или "иммунорегулятор" относится к средству, например, средству, направленно воздействующему на компонент сигнального пути, которое может участвовать в модуляции, регуляции или модификации иммунного ответа. "Модулирующий", "регулирующий" или "модифицирующий" иммунный ответ относится к любому изменению в клетке иммунной системы или активности такой клетки (например, эффекторной Т-клетки, такой как Th1-клетка). Такая модуляция включает в себя стимуляцию или подавление иммунной системы, что может проявляться увеличением или уменьшением числа различных типов клеток, увеличением или уменьшением активности этих клеток или любыми другими изменениями, которые могут происходить в иммунной системе. Были идентифицированы как ингибирующие, так и стимулирующие иммуномодуляторы, некоторые из которых могут характеризоваться улучшенной функцией в микроокружении опухоли. Согласно некоторым вариантам осуществления иммуномодулятор нацелен на молекулу на поверхности Т-клетки. "Иммуномодулирующая мишень" или "иммунорегуляторная мишень" представляет собой молекулу, например, молекулу клеточной поверхности, которая представляет собой мишень для связывания и активность которой изменяется в результате связывания вещества, средства, фрагмента, соединения или молекулы. Иммуномодулирующие мишени включают в себя, например, рецепторы на поверхности клетки ("иммуномодулирующие рецепторы") и рецепторные лиганды ("иммуномодулирующие лиганды").

"Иммунотерапия" относится к лечению субъекта, пораженного или подвергающегося риску заражения или рецидива заболевания, способом, предусматривающим индуцирование, усиление, подавление или иное изменение иммунной системы или иммунного ответа.

"Иммуностимулирующая терапия" относится к способу лечения, который приводит к увеличению (индуцированию или усилению) иммунного ответа у субъекта, например, для лечения рака.

"Потенцирование эндогенного иммунного ответа" означает повышение эффективности или активности существующего иммунного ответа у субъекта. Это увеличение эффективности и активности может быть достигнуто, например, путем преодоления механизмов, которые подавляют эндогенный иммунный ответ хозяина, или путем стимуляции механизмов, которые усиливают эндогенный иммунный ответ хозяина.

"Т-эффекторные" ("T_{eff}") клетки относятся к Т-клеткам (например, CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеткам) с цитолитической активностью, а также к Т-хелперным (Th) клеткам, например, Th1-клеткам, которые секретируют цитокины и активируют и направляют другие иммунные клетки, но не включают в себя регуляторные Т-клетки (клетки Treg). Некоторые описанные в настоящем документе антитела к TIM3 активируют T_{eff}-клетки, например, клетки CD4⁺ и CD8⁺ T_{eff}-клетки и Th1-клетки.

Повышенная способность стимулировать иммунный ответ или иммунную систему может представлять собой результат повышенной агонистической активности Т-клеточных костимуляторных рецепторов и/или повышенной антагонистической активности ингибирующих рецепторов. Повышенная способность стимулировать иммунный ответ или иммунную систему может отражаться в кратном увеличении EC₅₀ или максимального уровня активности в анализе, который измеряет иммунный ответ, например, анализе, который измеряет изменения в высвобождении цитокинов или хемокинов, цитолитическую активность (определяется непосредственно на клетках-мишенях или опосредованно через обнаружение CD 107a или гранзимов) и пролиферации. Способность стимулировать иммунный ответ или активность иммунной системы может быть повышена по меньшей мере на 10, 30, 50, 75%, в 2 раза, в 3 раза, в 5 раз или более.

Используемый в настоящем документе термин "связанный" относится к ассоциации двух или более молекул. Связь может быть ковалентной или нековалентной. Эта связь также может быть генетической

(т.е. рекомбинантно слитой). Такие связи могут быть достигнуты с использованием широкого спектра известных в настоящей области техники способов, таких как химическое конъюгирование и получение рекомбинантного белка.

Используемый в настоящем документе термин "введение" относится к физическому введению субъекту композиции, содержащей терапевтическое средство, с использованием любого из различных способов и систем доставки, известных специалистам в настоящей области техники. Различные пути введения описанных в настоящем документе антител к TIM3 включают в себя внутривенный, внутрибрюшинный, внутримышечный, подкожный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, посредством инъекции или инфузии. Используемая в настоящем документе фраза "парентеральное введение" означает способы введения, отличные от энтерального и местного введения, как правило, путем инъекции, и включает в себя, без ограничения, внутривенную, внутрибрюшинную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрилимфатическую, внутриочаговую, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и внутригрудинную инъекцию и инфузию, а также электропорацию *in vivo*. Альтернативно, описанное в настоящем документе антитело может быть введено непарентеральным путем, таким как местный, эпидермальный или слизистый путь введения, например, интраназально, перорально, вагинально, ректально, сублингвально или местно. Введение также может быть выполнено, например, один раз, множество раз и/или в течение одного или нескольких продолжительных периодов.

Используемый в настоящем документе термин "опосредованный Т-клетками ответ" относится к ответу, опосредованному Т-клетками, включая в себя эффекторные Т-клетки (например, CD8⁺ клетки) и хелперные Т-клетки (например, CD4⁺ клетки). Опосредованные Т-клетками ответы включают в себя, например, цитотоксичность и пролиферацию Т-клеток.

Используемый в настоящем документе термин "ответ цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL)" относится к иммунному ответу, индуцированному цитотоксическими Т-клетками. Ответы CTL опосредуются в основном CD8⁺ Т-клетками.

Используемые в настоящем документе термины "ингибирует" или "блокирует" (например, относящиеся к ингибированию/блокированию связывания TIM3-L с TIM3 на клетках) используются взаимозаменяемо и охватывают как частичное, так и полное ингибирование/блокирование. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 ингибирует связывание TIM3-L с TIM3 по меньшей мере приблизительно на 50%, например, приблизительно на 60, 70, 80, 90, 95, 99 или 100%, определяемое, например, как дополнительно описано в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 ингибирует связывание TIM3-L с TIM3 не более чем на 50%, например, приблизительно на 40, 30, 20, 10, 5 или 1%, определяемое, например, как дополнительно описано в настоящем документе.

Используемая в настоящем документе фраза "ингибирует рост опухоли" включает в себя любое измеримое уменьшение роста опухоли, например, ингибирование роста опухоли по меньшей мере приблизительно на 10%, например, по меньшей мере приблизительно на 20%, по меньшей мере приблизительно на 30%, по меньшей мере приблизительно на 40%, по меньшей мере приблизительно на 50%, по меньшей мере приблизительно на 60%, по меньшей мере приблизительно на 70%, по меньшей мере приблизительно на 80%, по меньшей мере приблизительно на 90%, по меньшей мере приблизительно на 99% или на 100%.

Используемый в настоящем документе термин "рак" относится к широкой группе заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом аномальных клеток в организме. Нерегулируемое клеточное деление может привести к образованию злокачественных опухолей или клеток, которые проникают в соседние ткани и могут метастазировать в отдаленные части тела через лимфатическую систему или кровотоки.

Используемые в настоящем документе термины "лечить", "лечение" и "обработка" относятся к любому типу вмешательства или выполняемого процесса, или введению активного средства субъекту с целью обратить вспять, облегчить, улучшить, ингибировать или замедлить или предотвратить прогрессирующее, развитие, тяжесть или рецидив симптома, осложнения, состояния или биохимических признаков, связанных с заболеванием, или повысить общую выживаемость. Субъект, который подвергается лечению может характеризоваться наличием заболевания или заболевание у него может отсутствовать (например, для профилактики).

"Гематологическое злокачественное новообразование" включает в себя лимфому, лейкоз, миелому или лимфоидное злокачественное образование, а также рак селезенки и лимфатических узлов. Иллюстративные лимфомы включают в себя как В-клеточные лимфомы (В-клеточный гематологический рак), так и Т-клеточные лимфомы. В-клеточные лимфомы включают в себя как лимфомы Ходжкина, так и большинство неходжкинских лимфом. Неограничивающие примеры В-клеточных лимфом включают в себя диффузную В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную лимфому, лимфому лимфоидной ткани слизистой оболочкой, мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (перекрывается с хроническим лимфоцитарным лейкозом), мантийноклеточную лимфому (MCL), лимфому Беркитта, медиастинальную В-

крупноклеточную лимфому, макроглобулинемию Вальденстрема, узловую В-клеточную лимфому из клеток краевой зоны, лимфому маргинальной зоны селезенки, внутрисосудистую В-крупноклеточную лимфому, первичную выпотную лимфому, лимфоматоидный гранулематоз. Неограничивающие примеры Т-клеточных лимфом включают в себя внеузловую Т-клеточную лимфому, кожную Т-клеточную лимфому, анапластическую крупноклеточную лимфому и ангиоиммуобластную Т-клеточную лимфому. Гематологические злокачественные новообразования также включают в себя лейкоз, такой как, но без ограничения, вторичный лейкоз, хронический лимфолейкоз, острый миелогенный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз и острый лимфобластный лейкоз. Гематологические злокачественные новообразования также включают в себя миеломы, такие как множественная миелома и вялотекущая множественная миелома, но не ограничиваются ими. Другие гематологические и/или В-клеточные или Т-клеточные формы рака охватываются термином гематологические злокачественные новообразования.

Термин "эффективная доза" или "эффективная дозировка" определяется как количество, достаточное для достижения или по меньшей мере частичного достижения желаемого эффекта. "Терапевтически эффективное количество" или "терапевтически эффективная дозировка" лекарственного средства или терапевтического средства представляет собой любое количество лекарственного средства, которое при применении отдельно или в комбинации с другим терапевтическим средством способствует регрессии заболевания, о чем свидетельствует уменьшение выраженности симптомов заболевания, увеличение частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания или предупреждение нарушений или инвалидности вследствие заболевания. Терапевтически эффективное количество или дозировка лекарственного средства включает в себя "профилактически эффективное количество" или "профилактически эффективную дозировку", которая представляет собой любое количество лекарственного средства, которое при введении отдельно или в комбинации с другим терапевтическим средством субъекту, подверженному риску развития заболевания или страдающего от рецидива заболевания, тормозит развитие или рецидив заболевания. Способность терапевтического средства стимулировать регрессию заболевания или ингибировать развитие или рецидив заболевания можно оценить с использованием различных способов, известных практикующему специалисту, например, у людей во время клинических испытаний, на животных модельных системах, прогнозирующих эффективность у людей, или путем анализа активности средства в анализах *in vitro*.

В качестве примера, противораковое средство представляет собой лекарственное средство, которое способствует регрессии рака у субъекта. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтически эффективное количество лекарственного средства способствует регрессии рака до точки его устранения. "Содействие регрессии рака" означает, что введение эффективного количества лекарственного средства, отдельно или в комбинации с противоопухолевым средством, приводит к уменьшению роста или размера опухоли, некрозу опухоли, уменьшению тяжести по меньшей мере одного симптома заболевания, увеличению частоты и продолжительности бессимптомных периодов заболевания, предотвращению нарушения или нетрудоспособности из-за заболевания или иному улучшению симптомов заболевания у пациента. Кроме того, термины "эффективный" и "эффективность" в отношении лечения включают в себя как фармакологическую эффективность, так и физиологическую безопасность. Фармакологическая эффективность относится к способности лекарственного средства стимулировать регрессию рака у пациента. Под физиологической безопасностью понимается уровень токсичности или других неблагоприятных физиологических воздействий на клеточном уровне, уровне органов и/или организмов (нежелательные явления), возникающих в результате применения лекарственного средства.

В качестве примера для лечения опухолей, терапевтически эффективное количество или дозировка лекарственного средства ингибирует рост клеток или рост опухоли по меньшей мере приблизительно на 20%, по меньшей мере приблизительно на 40%, по меньшей мере приблизительно на 60% или по меньшей мере приблизительно на 80% по сравнению с не подвергнутыми лечению субъектами. Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтически эффективное количество или дозировка лекарственного средства полностью ингибирует рост клеток или опухоли, т.е. ингибирует рост клеток или рост опухолей на 100%. Способность соединения ингибировать рост опухоли может быть оценена с использованием описанных ниже анализов. Альтернативно, это свойство композиции может быть оценено путем изучения способности соединения ингибировать рост клеток, такое ингибирование может быть измерено *in vitro* с помощью анализов, известных специалисту в настоящей области техники. Согласно другим описанным в настоящем документе вариантам осуществления регрессия опухоли может наблюдаться и продолжаться в течение периода, составляющего по меньшей мере приблизительно 20 дней, по меньшей мере приблизительно 40 дней или по меньшей мере приблизительно 60 дней.

Термин "пациент" включает в себя людей и других млекопитающих, которые получают либо профилактическое, либо терапевтическое лечение.

Используемый в настоящем документе термин "субъект" включает в себя любого человека или отличное от человека животное. Например, описанные в настоящем документе способы и композиции могут использоваться для лечения субъекта, страдающего от рака. Термин "отличное от человека животное" включает в себя всех позвоночных животных, например, млекопитающих и отличных от млекопитающих, например, нечеловекообразных приматов, овец, собак, коров, курей, земноводных, рептилий и

т.д.

Термин "основанная на массе" доза или дозировка, как указано в настоящем документе, означает, что доза, которая вводится пациенту, рассчитывается на основе массы пациента. Например, когда пациенту с массой тела 60 кг необходимо 3 мг/кг антитела к TIM3, можно рассчитать и использовать соответствующее количество антитела к TIM3 (т.е. 180 мг) для введения.

Использование термина "фиксированная доза" в отношении способа настоящего раскрытия означает, что два или более разных антитела в одной композиции (например, антитело к TIM3 и второе антитело, например, PD-1 или антитело к PD-L1) присутствуют в композиции в определенных (фиксированных) соотношениях друг с другом. Согласно некоторым вариантам осуществления фиксированная доза основана на массе (например, мг) антител. Согласно некоторым вариантам осуществления фиксированная доза основана на концентрации (например, мг/мл) антител. Согласно некоторым вариантам осуществления соотношение двух антител (например, к TIM3 и к PD1 или к PD-L1) составляет по меньшей мере приблизительно 1:1, приблизительно 1:2, приблизительно 1:3, приблизительно 1:4, приблизительно 1:5, приблизительно 1:6, приблизительно 1:7, приблизительно 1:8, приблизительно 1:9, приблизительно 1:10, приблизительно 1:15, приблизительно 1:20, приблизительно 1:30, приблизительно 1:40, приблизительно 1:50, приблизительно 1:60, приблизительно 1:70, приблизительно 1:80, приблизительно 1:90, приблизительно 1:100, приблизительно 1:120, приблизительно 1:140, приблизительно 1:160, приблизительно 1:180, приблизительно 1:200, приблизительно 200:1, приблизительно 180:1, приблизительно 160:1, приблизительно 140:1, приблизительно 120:1, приблизительно 100:1, приблизительно 90:1, приблизительно 80:1, приблизительно 70:1, приблизительно 60:1, приблизительно 50:1, приблизительно 40:1, приблизительно 30:1, приблизительно 20:1, приблизительно 15:1, приблизительно 10:1, приблизительно 9:1, приблизительно 8:1, приблизительно 7:1, приблизительно 6:1, приблизительно 5:1, приблизительно 4:1, приблизительно 3:1 или приблизительно 2:1 мг первого антитела (например, антитела к TIM3) к мг второго антитела. Например, соотношение 2:1 антитела к TIM3 и антитела к PD-1, такого как ниволумаб, может означать, что флакон или инъекция может содержать приблизительно 480 мг антитела к TIM3 и 240 мг антитела к PD-1 или приблизительно 2 мг/мл антитела к TIM3 и 1 мг/мл антитела к PD-1.

Использование термина "постоянная доза" в отношении описанных в настоящем документе способов и дозировок означает дозу, которую вводят пациенту без учета массы или площади поверхности тела (BSA) пациента. Следовательно, постоянная доза предоставляется не в виде дозы мг/кг, а в виде абсолютного количества средства (например, антитела к TIM3). Например, человек массой 60 кг и человек массой 100 кг будут получать одинаковую дозу антитела (например, 480 мг антитела к TIM3).

Используемые в настоящем документе термины "мкг" и "мкМ" используются взаимозаменяемо с "мкг" и "мкМ", соответственно.

Различные описанные в настоящем документе аспекты описаны более подробно в следующих подразделах.

I. Антитела к TIM3 человека.

В настоящем документе описаны антитела, например, полностью человеческие антитела, которые характеризуются определенными функциональными признаками или свойствами. Например, антитела специфически связываются с TIM3 человека и, более конкретно, конкретным доменом (например, функциональным доменом) внутри внеклеточного домена TIM3 человека. Согласно конкретному варианту осуществления антитела специфически связываются с сайтом на TIM3, с которым связывается TIM3-L. Согласно определенным вариантам осуществления антитела представляют собой антагонистические антитела, т.е. они ингибируют или подавляют T-клеточную ингибирующую активность TIM3 на клетки, например, T-клетки. Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 перекрестно реагируют с TIM3 от одного или нескольких нечеловекообразных приматов, такими как TIM3 яванского макака. Согласно некоторым вариантам осуществления антитела специфически связываются с внеклеточной областью TIM3 человека и внеклеточной областью TIM3 яванского макака. Согласно одному варианту осуществления антитела связываются с TIM3 человека с высокой аффинностью.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 проявляют одно или несколько из следующих функциональных свойств:

- (a) связывание с растворимым и/или мембраносвязанным TIM3 человека;
- (b) связывание с растворимым и/или мембраносвязанным TIM3 яванского макака;
- (c) индуцирование или стимуляция иммунного ответа;
- (d) индуцирование или стимуляция активации T-клеток, например, активации Th1-клеток (о чем свидетельствует, например, усиленная секреция и/или пролиферация цитокинов);
- (e) индуцирование или стимуляция пролиферации T-клеток (например, CD4⁺, CD8⁺ T-клеток, Th1-клеток или TIL), например, в анализе совместного культивирования, таком как описанный в примерах;
- (f) индуцирование или стимуляция производства IFN- γ T-клетками, например, Th1-клетками или инфильтрирующими опухоль лимфоцитами (TIL), такими как TIL из опухолей почки, легких, поджелудочной железы или молочной железы человека, как определено, например, в анализе, описанном в примерах;
- (g) блокирование или ингибирование связывания TIM3 человека с PtdSer, как определено, напри-

мер, в анализе, описанном в примерах;

(h) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;

(i) связывание с внеклеточным доменом TIM3 человека (i) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (ii) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (iii) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) или (iv) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297);

(j) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека описанного в настоящем документе связывающего TIM3 антитела (например, 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6 или любого из TIM3.2-TIM3.18), как определяется, например, в анализе, описанном в примерах;

(k) связывание с TIM3 человека, но не с TIM3 человека, содержащим аминокислотную замену одного или нескольких из следующих аминокислотных остатков: L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120, как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20); и

(l) связывание с областями TIM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGCSPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено посредством HDX-MS;

(m) наличие переменных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено рентгеновской кристаллографией, и/или (n) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с TIM3 человека с высокой аффинностью, например, с K_D 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М или менее 10^{-10} М или менее, 10^{-11} М или менее, 10^{-12} М или менее, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-7} М, от 10^{-10} М до 10^{-7} М или от 10^{-9} М до 10^{-7} М. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с растворимым TIM3 человека, например, как определено посредством BIACORE™ (например, как описано в примерах), с K_D 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М (1 нМ) или менее, 10^{-10} М или менее, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-7} М, от 10^{-10} М до 10^{-7} М, от 10^{-9} М до 10^{-7} М или от 10^{-8} М до 10^{-7} М. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается со связанным (например, связанным с клеточной мембраной) TIM3 человека, такими как на активированных Т-клетках человека, например, как определено с помощью проточной цитометрии и графика Скэтчарда, с K_D 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М (1 нМ) или менее, 5×10^{-10} М или менее, 10^{-10} М или менее, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-8} М, от 10^{-10} М до 10^{-8} М, от 10^{-9} М до 10^{-8} М, от 10^{-11} М до 10^{-9} М или от 10^{-10} М до 10^{-9} М. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается со связанным (например, связанным с клеточной мембраной) TIM3 человека, таким как на активированных Т-клетках человека, например, как определено с помощью проточной цитометрии, с EC_{50} 10 мкг/мл или менее, 5 мкг/мл или менее, 1 мкг/мл или менее, 0,9 мкг/мл или менее, 0,8 мкг/мл или менее, 0,7 мкг/мл или менее, 0,6 мкг/мл или менее, 0,5 мкг/мл или менее, 0,4 мкг/мл или менее, 0,3 мкг/мл или менее, 0,2 мкг/мл или менее, 0,1 мкг/мл или менее, 0,05 мкг/мл или менее или 0,01 мкг/мл или менее. Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с TIM3 яванского макака, например, с K_D 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М или менее, 10^{-10} М или менее, 10^{-11} М или менее, 10^{-12} М или менее, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-7} М, от 10^{-10} М до 10^{-7} М или от 10^{-9} М до 10^{-7} М. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с растворимым TIM3 яванского макака, например, как определено посредством BIACORE™ (например, как описано в примерах), с K_D 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М (1 нМ) или менее, 10^{-10} М или менее, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-7} М, от 10^{-10} М до 10^{-7} М, от 10^{-9} М до 10^{-7} М или от 10^{-8} М до 10^{-7} М. Антитела к TIM3 могут связываться с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 100 нМ или менее, 10 нМ или менее, от 100 нМ до 0,01 нМ, от 100 нМ до 0,1 нМ, от 100 нМ до 1 нМ или от 10 нМ до 1 нМ, например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается со связанным (например, связанным с клеточной мембраной) TIM3 яванского макака, таким как на активированных Т-клетках человека, например, как определено с помощью проточной цитометрии и графика Скэтчарда, с K_D 10^{-7} М или менее, 10^{-8} М или менее, 10^{-9} М (1 нМ) или менее, 5×10^{-10} М или менее, 10^{-10} М или менее, от 10^{-12} М до 10^{-7} М, от 10^{-11} М до 10^{-8} М, от 10^{-10} М до 10^{-8} М, от 10^{-9} М до 10^{-8} М, от 10^{-11} М до 10^{-9} М или от 10^{-10} М до 10^{-9} М.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 стимулируют или усиливают иммунный ответ, например, путем активации Т-клеток, например, в опухоли. Например, антитела к TIM3 могут активировать или костимулировать клетки, о чем свидетельствует, например, усиленная секреция цитокинов (например, IFN- γ) и/или усиленная пролиферация, что может представлять собой результат ингибирования опосредованной TIM3 ингибирующей активности Т-клеток. Согласно некоторым вариантам осуществления активация Т-клеток или костимуляция антителом

к TIM3 происходит в присутствии стимуляции CD3. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 увеличивает секрецию IFN- γ на 50%, 100% (т.е. в 2 раза), в 3 раза, в 4 раза, в 5 или более раз, необязательно с максимум до 10 раз, 30 раз, 100 раз, как измерено, например, на первичных Т-клетках человека и/или Т-клетках, экспрессирующих TIM3 человека, таких как инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 ингибируют связывание фосфатидилсерина с TIM3 человека на клетках, например, клетках СНО или активированных Т-клетках, экспрессирующих TIM3 человека, например, с EC₅₀ 10 мкг/мл или менее, 1 мкг/мл или менее, от 0,01 мкг/мл до 10 мкг/мл, от 0,1 мкг/мл до 10 мкг/мл или от 0,1 мкг/мл до 1 мкг/мл.

Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с эпитопом, например, конформационным эпитопом, во внеклеточной части TIM3 человека, например, в Ig-подобном домене внеклеточной области, т.е. с аминокислотами от 22 до 202 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом, расположенным в пределах аминокислот 22-120 внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 286) или 1-99 зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290) (см. примеры). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с областью, или эпитопом внутри области, состоящей из аминокислот 58-64 TIM3 человека, характеризующейся SEQ ID NO: 286, что соответствует аминокислотным остаткам 37-43 зрелого TIM3 человека (CPVFECG, SEQ ID NO: 296; см. фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с областью или с эпитопом в пределах области, состоящей из аминокислот 111-120 TIM3 человека, характеризующегося SEQ ID NO: 286, что соответствует аминокислотным остаткам 90-99 зрелого TIM3 человека (RIQIPGIMND, SEQ ID NO: 298; см. фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с областью или эпитопом в пределах области, состоящей из аминокислот 58-64 TIM3 человека, характеризующегося SEQ ID NO: 286 (CPVFECG, SEQ ID NO: 296) или с областью или эпитопом в пределах области, состоящей из аминокислот 111-120 TIM3 человека, характеризующегося SEQ ID NO: 286 (RIQIPGIMND, SEQ ID NO: 298; см. фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с областью, или с эпитопом в пределах области, состоящей из аминокислот 78-89 TIM3 человека, характеризующегося SEQ ID NO: 286, которая соответствует аминокислотным остаткам 57-83 зрелого TIM3 человека (WTSRYWLNDFR, SEQ ID NO: 297; см. фиг. 20).

Согласно одному варианту осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 13A3, то есть с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, F61, E62, C63, R111 и D120 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, F61, E62, C63, D104, R111, Q113 и D120 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, F61, E62, C63, R111 и D120 в SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, F61, E62, C63, D104, R111, Q113 и D120 в SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 3G4, т.е. с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G116 и M118 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, D104, G116 и M118 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G116 и M118 в SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, D104, G116 и M118 в SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 17C3, то есть с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64 и G116 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62,

C63, G64, D104 и G116 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, и G116 в SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, D104 и G116 в SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 8B9, то есть с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, G86, D87 и R89 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83,

L84, G86, D87 и R89 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 8B9, то есть с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, G86, D87, R89 и D104 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, G86, D87 и R89 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20) заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87 и R89 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20) заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, G86, D87, R89 и D104 в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20) заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 конкурируют за связывание с TIM3 человека (или ингибируют связывание) с антителами к TIM3, содержащими CDR или вариabельные области, описанные в настоящем документе, например, такими как антитела 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 и любое от TIM3.2 до TIM3.18. Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 ингибируют связывание антител 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18 с TIM3 человека по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или на 100%. Согласно некоторым вариантам осуществления 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любое из TIM3.2-TIM3.18 ингибируют связывание антител к TIM3 с TIM3 человека по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или на 100%. Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 ингибируют связывание 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18 с TIM3 человека по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или на 100% и 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любое из TIM3.2-TIM3.18 ингибирует связывание антител к TIM3 с TIM3 человека по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или на 100% (например, конкурируют в обоих направлениях).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 характеризуются 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или всеми следующими признаками:

(1) связывание с растворимым TIM3 человека, например, с K_D 10 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством Вiasore, например, как описано в примерах;

(2) связывание с растворимым TIM3 яванского макака, например, с K_D 100 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 100 нМ), например, как измерено посредством Вiasore, например, как описано в примерах;

(3) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с EC_{50} 1 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 1 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(4) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(5) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 20 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 20 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(6) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как

описано в примерах;

(7) индуцирование или усиление активации Т-клеток (например, путем блокирования или уменьшения ингибирующего действия TIM3), о чем свидетельствует (i) увеличение производства IFN- γ в экспрессирующих TIM3 Т-клетках (например, Th1-клетках или TIL) и/или (ii) усиление пролиферации экспрессирующих TIM3 Т-клеток (например, Th1-клеток или TIL), например, как описано в примерах;

(8) стимуляция пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), например, как описано в примерах;

(9) ингибирование связывания фосфатидилсерина с TIM3, например, как измерено посредством анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3, например, как описано в примерах;

(10) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;

(11) связывание с одной из следующих областей внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) и (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297), например, как описано в примерах;

(12) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 (как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа, например, как описано в примерах;

(13) конкурирование в одном или обоих направлениях за связывание с TIM3 человека с антителом, содержащим домены VH и VL любого из 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или TIM3.7, TIM3.8, TIM3.10, TIM3.11, TIM3.12, TIM3.13, TIM3.14, TIM3.15, TIM3.16, TIM3.18, например, как описано в примерах;

(14) связывание с областями TIM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено посредством HDX-MS, например, как описано в примерах;

(15) наличие переменных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено рентгеновской кристаллографией (например, описанной в примерах; нумерация согласно SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)); и/или

(16) (a) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 аминокислот C58, P59, F61, E62, C63, R111, D120 и, необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа; (b) связывание с ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством HDX-MS, как описано в примерах; и/или (c) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

Соответственно, понятно, что антитело, которое проявляет одно или несколько из этих функциональных свойств (например, биохимическая, иммунохимическая, клеточная, физиологическая или другая биологическая активность или т.п.), как определено в соответствии с методологиями, известными в настоящей области техники и описанными в настоящем документе, демонстрирует статистически значимое различие в конкретной активности относительно активности, наблюдаемой в отсутствие антитела (например, или когда присутствует контрольное антитело нецелевой специфичности). Согласно некоторым вариантам осуществления индуцированное антителом к TIM3 увеличение измеренного параметра (например, пролиферации Т-клеток, производства цитокинов) в данном анализе вызывает статистически значимое увеличение по меньшей мере на 10% измеренного параметра, например, по меньшей мере на 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 100% (т.е. в 2 раза), в 3 раза, в 5 или в 10 раз, и согласно некоторым вариантам осуществления описанное в настоящем документе антитело может увеличивать измеряемый параметр, например, более чем на 92, 94, 95, 97, 98, 99, 100% (т.е. в 2 раза), в 3 раза, в 5 раз или в 10 раз, относительно того же анализа, проведенного в отсутствие антитела. И наоборот, индуцированное антителом к TIM3 уменьшение измеренного параметра (например, объема опухоли, связывания TIM3-L с TIM3 человека) в данном анализе вызывает статистически значимое уменьшение по меньшей мере на 10% измеренного параметра, например, по меньшей мере 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80% или 90, и согласно некоторым вариантам осуществления описанное в настоящем документе антитело может уменьшать измеряемый параметр, например, более чем на 92, 94% 95, 97, 98 или 99% относительно того же анализа, проведенного в отсутствие антитела.

Стандартные анализы для оценки способности антител связываться с TIM3 различных видов известны в настоящей области техники, включая в себя, например, ELISA, вестерн-блоты и RIA. Подходящие анализы подробно описаны в примерах. Кинетика связывания (например, аффинность связывания) антител также может быть оценена с помощью стандартных анализов, известных в настоящей области техники, таких как анализ Вiasoge. Анализы для оценки влияния антител на функциональные свойства

TIM3 (например, связывание лиганда, пролиферация Т-клеток, производство цитокинов) описаны более подробно ниже и в примерах.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 не представляют собой нативные антитела или не встречаются в природе. Например, антитела к TIM3 содержат посттрансляционные модификации, которые отличаются от модификаций антител, которые встречаются в природе, такие как наличие большего, меньшего или другого типа посттрансляционной модификации.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 не обладают агонистической активностью, как определено, например, в перекрестном сшивании антитела к TIM3 в экспериментах по совместному культивированию СНО-ОКТ3-CD32:Т-клеток, в которых такие антитела не усиливают активность выше, чем одно антитело к TIM3. Согласно определенным вариантам осуществления антитела к TIM3 блокируют взаимодействие TIM3 с его лигандом без стимуляции агонистической активности.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 усиливают производство IL-12 из моноцитов или дендритных клеток, обработанных LPS.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 восстанавливают инфильтрирующие опухоль CD8⁺ Т-клетки, которые коэкспрессируют PD-1 и TIM3, посредством комбинированного воздействия, таким образом избегая истощения CD8⁺ Т-клеток.

II. Иллюстративные антитела к TIM3.

Конкретные описанные в настоящем документе антитела к TIM3 представляют собой антитела, например, моноклональные, рекомбинантные и/или человеческие антитела, имеющие последовательности CDR и/или варибельной области антител 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18, выделенных и структурно охарактеризованных, как описано в настоящем документе, а также антитела, характеризующиеся идентичностью, составляющей по меньшей мере 80% (например, идентичностью по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере 99%) с их варибельной областью или последовательностями CDR. Аминокислотные последовательности VH из 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO: 34-40, соответственно. Аминокислотные последовательности VH мутированных версий 13A3, 8B9 и 9F6 представлены в SEQ ID NO: 112-121 и 364. Аминокислотные последовательности VL из 13A3, 17C3 и 3G4 представлены в SEQ ID NO: 60. Аминокислотные последовательности VL из 8B9, 8C4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO: 61. Аминокислотная последовательность VL из 9F6 представлена в SEQ ID NO: 61, 62 и 63. Аминокислотные последовательности VL мутированных версий 13A3, 8B9 и 9F6 представляют собой последовательности соответствующих немутированных антител. Краткое описание идентичности SEQ ID NO представлено на фиг. 13.

Соответственно, в настоящем документе предусмотрены выделенные антитела или их антигенсвязывающая часть, содержащая варибельные области тяжелой и легкой цепи, причем варибельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34-40, 112-121 и 364.

Также предусмотрены выделенные антитела или их антигенсвязывающие части, содержащие варибельные области тяжелой и легкой цепи, причем варибельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 60-63.

В настоящем документе предусмотрены выделенные антитела к TIM3 человека или их антигенсвязывающие части, содержащие:

- (a) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 34 и 60, соответственно;
- (b) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 35 и 61, соответственно;
- (c) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 36 и 61, соответственно;
- (d) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 37 и 60, соответственно;
- (e) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 38 и 61, соответственно;
- (f) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 38 и 62, соответственно;
- (g) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 38 и 63, соответственно;
- (h) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 39 и 60, соответственно;
- (i) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 40 и 61, соответственно;
- (j) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 121 и 63, соответственно;
- (k) последовательности варибельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 120

и 61, соответственно;

(l) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 112 и 60, соответственно;

(m) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 113 и 60, соответственно;

(n) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 114 и 60, соответственно;

(o) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 115 и 60, соответственно;

(p) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 116 и 60, соответственно;

(q) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 117 и 60, соответственно;

(r) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 118 и 60, соответственно;

(s) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 119 и 60, соответственно или

(t) последовательности вариабельной области тяжелой и легкой цепи, содержащие SEQ ID NO: 364 и 60, соответственно.

Антитела к TIM3 могут содержать CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой и легкой цепи из 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8 или любого из TIM3.2-TIM3.18 или их комбинации. Аминокислотные последовательности CDR1 VH из 13A3, 8B9, 8C4 и 17C3 представлены в SEQ ID NO: 41-44, соответственно. Аминокислотные последовательности CDR1 VH из 9F6, 3G4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO 45. Аминокислотная последовательность CDR1 VH мутированных антител 13A3 (т.е. TIM3.10-TIM3.18) представляет собой такую же, как и у немутированного антитела 13A3, т.е. SEQ ID NO: 41. Аминокислотная последовательность CDR1 VH мутированного антитела 8B9 (т.е. TIM3.8) представляет собой такую же, как и у немутированного антитела 8B9, т.е. SEQ ID NO: 42. Аминокислотная последовательность CDR1 VH мутированного антитела 9F6 (т.е. TIM3.7) представляет собой такую же, как у немутированного антитела 9F6, т.е. SEQ ID NO: 45. Аминокислотные последовательности CDR2 VH из 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO: 46-52, соответственно. Аминокислотная последовательность CDR2 VH мутированных антител 13A3 TIM3.10, TIM3.17 и TIM3.18 представлена в SEQ ID NO: 122. Аминокислотная последовательность CDR2 VH мутированных антител 13A3 TIM3.11 и TIM3.12 представлена в SEQ ID NO: 123 и 124, соответственно. Аминокислотная последовательность CDR2 VH мутированных антител 13A3 TIM3.13 и TIM3.16 представляет собой такую же, как последовательность у немутированного антитела 13A3, т.е. SEQ ID NO: 46. Аминокислотная последовательность CDR2 VH мутированного антитела 8B9 (т.е. TIM3.8) представлена в SEQ ID NO: 125. Аминокислотная последовательность CDR2 VH мутированного антитела 9F6 (т.е. TIM3.7) представляет собой такую же, как и у немутированного антитела 9F6, т.е. SEQ ID NO: 45. Аминокислотные последовательности CDR3 VH из 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO: 53-59, соответственно.

Аминокислотная последовательность CDR3 VH мутированных антител 13A3 (т.е. TIM3.10-TIM3.12) представляет собой такую, как у немутированного антитела 13A3, т.е. SEQ ID NO: 53. Аминокислотная последовательность CDR3 VH мутированных антител 13A3 TIM3.13 и TIM3.18 представлена в SEQ ID NO: 126. Аминокислотная последовательность CDR3 VH мутированных антител 13A3 TIM3.15 и TIM3.17 представлена в SEQ ID NO: 128. Аминокислотные последовательности CDR3 VH мутированных антител 13A3 TIM3.14 и TIM3.16 представлены в SEQ ID NO: 127 и 129, соответственно. Аминокислотная последовательность CDR3 VH мутированного антитела 8B9 (т.е. TIM3.8) представляет собой такую, как у немутированного антитела 8B9, т.е. SEQ ID NO: 54. Аминокислотная последовательность CDR3 VH мутированного антитела 9F6 (т.е. TIM3.7) представляет собой такую, как у немутированного антитела 9F6, т.е. SEQ ID NO: 57. Аминокислотные последовательности CDR3 VH из 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO: 53-59, соответственно. Аминокислотные последовательности CDR1 VL из 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 3G4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO: 64. Аминокислотные последовательности CDR1 VL из 9F6 представлены в SEQ ID NO: 64 и 65. Аминокислотные последовательности CDR2 VL из 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 3G4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO: 66. Аминокислотные последовательности CDR2 VL из 9F6 представлены в SEQ ID NO: 66 и 67. Аминокислотные последовательности CDR3 VL из 13A3, 17C3 и 3G4 представлены в SEQ ID NO: 68. Аминокислотные последовательности CDR3 VL из 8B9, 8C4 и 17C8 представлены в SEQ ID NO: 69. Аминокислотные последовательности CDR3 VL из 9F6 представлены в SEQ ID NO: 69, 70 и 71. Аминокислотные последовательности CDR VL мутированных антител 13A3, 8B9 и 9F6 представляют собой такие же, как у соответствующих немутированных антител. На фиг. 13 представлен перечень SEQ ID NO для CDR описанных в настоящем документе антител к TIM3.

Области CDR очерчивают с использованием системы Kabat (Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publica-

tion No. 91-3242). Система Kabat является наиболее распространенной системой нумерации для схемы, называемой индексом EU или системой нумерации EU, которая основана на последовательной нумерации первого секвенированного человеческого IgG1 (the EU antibody; Edelman et al. 1969). На основе схемы нумерации Kabat, раскрытой в настоящем документе, нумерация антител может быть преобразована в другие известные в настоящей области техники системы, например, схему нумерации Chothia, IMGT, Martin (расширенная Chothia) или АНо.

Учитывая, что каждое из этих антител связывается с ТИМ3 человека и что антигенсвязывающая специфичность обеспечивается в основном областями CDR1, 2 и 3, последовательностями CDR1, 2 и 3 VH и последовательностями CDR1, 2 и 3 VL, например, те, что на фиг. 13, могут быть "смешаны и комбинированы" (т.е. CDR от разных антител могут быть смешаны и комбинированы, хотя каждое антитело должно содержать CDR1, 2 и 3 VH и CDR1, 2 и 3 VL) для создания других связывающих молекул к ТИМ3, описанных в настоящем документе. Связывание ТИМ3 таких "смешанных и комбинированных" антител может быть проверено с использованием анализов связывания, описанных выше и в примерах (например, ELISA). Согласно некоторым вариантам осуществления, когда последовательности CDR VH смешаны и комбинированы, последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 из определенной последовательности VH заменяется структурно сходной последовательностью (последовательностями) CDR. Аналогично, когда последовательности CDR VL смешаны и комбинированы, последовательность CDR1, CDR2 и/или CDR3 из определенной последовательности VL заменяется структурно сходной последовательностью (последовательностями) CDR. Специалисту в настоящей области техники будет очевидно, что новые последовательности VH и VL могут быть созданы путем замены одной или нескольких последовательностей областей CDR VH и/или VL структурно сходными последовательностями из последовательностей CDR, описанных в настоящем документе, для моноклональных антител 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4, 17C8 и любого из ТИМ3.2-ТИМ3.18.

В настоящем документе предусмотрены выделенные антитела к ТИМ3 человека или их антигенсвязывающие части, содержащие:

- (a) CDR1 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-45;
- (b) CDR2 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 46-52 и 122-125;
- (c) CDR3 варибельной области тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53-59 и 126-129;
- (d) CDR1 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 64-65;
- (e) CDR2 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 66-67; а также
- (f) CDR3 варибельной области легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 68-71;

причем антитело специфически связывается с ТИМ3 человека.

Согласно одному варианту осуществления антитело к ТИМ3 человека содержит варибельные области тяжелой и легкой цепи, причем области CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи содержат:

- (a) SEQ ID NO: 41, 46, 53;
- (b) SEQ ID NO: 42, 47, 54;
- (c) SEQ ID NO: 43, 48, 55;
- (d) SEQ ID NO: 44, 49, 56;
- (e) SEQ ID NO: 45, 50, 57;
- (f) SEQ ID NO: 45, 51, 58;
- (g) SEQ ID NO: 45, 52, 59;
- (h) SEQ ID NO: 41, 122, 53;
- (i) SEQ ID NO: 41, 123, 53;
- (j) SEQ ID NO: 41, 124, 53;
- (k) SEQ ID NO: 41, 46, 126;
- (l) SEQ ID NO: 41, 46, 127;
- (m) SEQ ID NO: 41, 46, 128;
- (n) SEQ ID NO: 41, 46, 129;
- (o) SEQ ID NO: 41, 122, 128 или
- (p) SEQ ID NO: 41, 122, 126;

причем антитело специфически связывается с ТИМ3 человека.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к ТИМ3 человека содержит варибельные области тяжелой и легкой цепи, причем области CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи содержат

- (a) SEQ ID NO: 64, 66, 68;

69, соответственно;

(h) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи содержат SEQ ID NO: 45, 51, 58, соответственно, а CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи содержат SEQ ID NO: 64, 66, 68 соответственно; или

(i) CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области тяжелой цепи содержат SEQ ID NO: 45, 52, 59, соответственно, а CDR1, CDR2 и CDR3 варибельной области легкой цепи содержат SEQ ID NO: 64, 66, 69, соответственно;

причем антитело специфически связывается с TIM3 человека.

Домен VH или одна или несколько его CDR, описанных в настоящем документе, могут быть связаны с константным доменом для образования тяжелой цепи, например, полноразмерной тяжелой цепи. Точно так же домен VL или одна или несколько его CDR, описанных в настоящем документе, могут быть связаны с константным доменом для образования легкой цепи, например, полноразмерной легкой цепи. Полноразмерная тяжелая цепь (за исключением С-концевого лизина (K) или С-концевого глицина и лизина (GK), которые могут отсутствовать) и полноразмерная легкая цепь объединяются, образуя полноразмерное антитело.

Описанный в настоящем документе домен VH может быть слит с константным доменом IgG человека, например, IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, которые либо встречаются в природе, либо модифицированы, например, как дополнительно описано в настоящем документе. Например, домен VH может содержать аминокислотную последовательность любого описанного в настоящем документе домена VH, слитого с IgG человека, например, с константной областью IgG1, такой как следующая аминокислотная последовательность константного домена человеческого IgG1 дикого типа:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHFFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYT
QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 291)
```

или таковая аллотипического варианта SEQ ID NO: 291 и имеет следующие аминокислотные последовательности:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHFFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYT
QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 277;
```

специфические для аллотипа аминокислотные остатки выделены жирным шрифтом и подчеркнуты).

Домен VH антитела к TIM3 может содержать аминокислотную последовательность любого описанного в настоящем документе домена VH, слитого с константной областью без эффекторных функций, например, со следующими аминокислотными последовательностями константного домена человеческого IgG1 без эффекторных функций:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHFFPAVLQSSGLYS
LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYT
QKLSLSLSPGK (SEQ ID NO: 294;
```

"IgG1.If", содержащий замены L234A, L235E, G237A, A330 и P33 IS, которые подчеркнуты) или

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP
 KPKDTLMISRTPPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
 HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSREMTKNQVSLTCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYT
 QKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 295;

"IgG1.3f", содержащий замены L234A, L235E и G237A, которые подчеркнуты).

Например, аллотипический вариант IgG1 содержит K97R, D239E и/или L241M (подчеркнуты и выделены жирным шрифтом выше) и нумерацию в соответствии с таковой в SEQ ID NO: 277, 294 и 295. В полноразмерной тяжелой области, например, 8C4 (SEQ ID NO: 3) и согласно нумерации EU эти аминокислотные замены имеют номера K214R, D356E и L358M. Согласно некоторым вариантам осуществления константная область антитела к TIM3 может дополнительно содержать одну или несколько мутаций или замен в аминокислотах L117, A118, G120, A213 и P214 (подчеркнуты выше), как пронумеровано в SEQ ID NO: 277, 294 и 295, или L234, A235, G237, A330 и P331 по нумерации EU. Согласно дополнительным вариантам осуществления константная область антитела к TIM3 содержит одну или несколько мутаций или замен в аминокислотах L117A, A118E, G120A, A213S и P214S SEQ ID NO: 291 или L234A, L235E, G237A, A330S и P331S по нумерации EU. Константная область антитела к TIM3 также может содержать одну или несколько мутаций или замен L117A, A118E и G120A SEQ ID NO: 291 или L234A, L235E и G237A по нумерации EU

Альтернативно, домен VH антитела к TIM3 может содержать аминокислотную последовательность любого описанного в настоящем документе домена VH, слитую с константной областью IgG4 человека, например, следующую аминокислотную последовательность IgG4 человека или ее варианты:

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPK
 DTLMISRTPPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
 LLSLSLGGK (SEQ ID NO: 292, содержащая S228P).

Описанный в настоящем документе домен VL может быть слит с константным доменом легкой цепи каппа или лямбда человека. Например, домен VL антитела к TIM3 может содержать аминокислотную последовательность любого описанного в настоящем документе домена VL, слитую со следующей аминокислотной последовательностью легкой цепи каппа IgG1 человека:

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
 TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 278)

Согласно некоторым вариантам осуществления константная область тяжелой цепи содержит лизин или другую аминокислоту на С-конце, например, она содержит следующие последние аминокислоты: LSPGK (SEQ ID NO: 279) в тяжелой цепи. Согласно некоторым вариантам осуществления в константной области тяжелой цепи отсутствует одна или несколько аминокислот на С-конце и содержится, например, С-концевая последовательность LSPG (SEQ ID NO: 280) или LSP (SEQ ID NO: 281).

Аминокислотные последовательности иллюстративных тяжелых и легких цепей соответствуют SEQ ID NO: 1-28, 72-111, 301-354 для тяжелых цепей и SEQ ID NO: 29-30 и 32-33 для легких цепей.

Настоящее изобретение относится к выделенным антителам к TIM3 человека или их антигенсвязывающим частям, содержащим:

- (a1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 301 (или 302) и 29, соответственно;
- (a2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 1 (или 8) и 29, соответственно;
- (a3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 15 (или 22) и 29, соответственно;
- (a4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 303 (или 304) и 29, соответственно;
- (a5) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 72 (или 82) и 29, соответственно;
- (a6) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 92 (или 102) и 29, соответственно;
- (a7) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 305 (или 306) и 29, соответственно;

- (c1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 327 (или 328) и 30, соответственно;
- (c2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 3 (или 10) и 30, соответственно;
- (c3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 17 (или 24) и 30, соответственно;
- (c4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 329 (или 330) и 30, соответственно;
- (d1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 331 (или 332) и 29, соответственно;
- (d2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 4 (или 11) и 29, соответственно;
- (d3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 18 (или 25) и 29, соответственно;
- (d4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 333 (или 334) и 29, соответственно;
- (e1.1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 335 (или 336) и 32, соответственно;
- (e1.2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 335 (или 336) и 33, соответственно;
- (e1.3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 335 (или 336) и 31, соответственно;
- (e2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 5 (или 12) и 33, соответственно;
- (e3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 19 (или 26) и 33, соответственно;
- (e4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 337 (или 338) и 33, соответственно;
- (e5) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 81 (или 91) и 33, соответственно;
- (e6) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 101 (или 111) и 33, соответственно;
- (e7) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 339 (или 340) и 33, соответственно;
- (f1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 341 (или 342) и 29, соответственно;
- (f2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 6 (или 13) и 29, соответственно;
- (f3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 20 (или 27) и 29, соответственно;
- (f4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 343 (или 344) и 29, соответственно;
- (g1) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 345 (или 346) и 30, соответственно;
- (g2) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 7 (или 14) и 30, соответственно;
- (g3) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 21 (или 28) и 30, соответственно, или
- (g4) последовательности тяжелой и легкой цепей, содержащие SEQ ID NO: 347 (или 348) и 30, соответственно;

причем антитело специфически связывается с TIM3 человека.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит комбинацию последовательностей тяжелых и легких цепей, представленных в настоящем документе, например, в предшествующем абзаце, причем антитело содержит две тяжелые цепи и две легкие цепи и может дополнительно содержать по меньшей мере одну дисульфидную связь, связывающую две тяжелые цепи вместе. Антитела также могут содержать дисульфидные связи, связывающие каждую из легких цепей с каждой из тяжелых цепей.

Тяжелую и легкую цепи, содержащие аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 99, 98, 97, 96, 95, 90, 85, 80, 75 или 70% идентична любой из представленных в настоящем документе тяжелых или легких цепей (или их переменными областями), например, SEQ ID NO: 1-33, 72-111 и 301-354, можно использовать для образования антител к TIM3 человека, имеющих желаемые характеристики, например, такие, которые дополнительно описаны в настоящем документе. Иллюстративные ва-

рианты представляют собой варианты, содержащие аллотипическую вариацию, например, в константном домене, и/или мутацию в варибельной или константной области, такую как раскрытые в настоящем документе мутации. Тяжелые и легкие цепи, содержащие аминокислотную последовательность, которая отличается максимум 1-30, 1-25, 1-20, 1-15, 1-10, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 или 1 аминокислотой (путем замены, добавления или делеции) от любой из тяжелых или легких цепей, представленных в настоящем документе (или их варибельных областей), может быть использована для образования антител к TIM3 человека, имеющих желаемые характеристики, например, такие, которые дополнительно описаны в настоящем документе.

Согласно различным вариантам осуществления описанные выше антитела проявляют одно или несколько, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, десять или больше, одиннадцать или более, двенадцать или более, тринадцать или более, четырнадцать или более, пятнадцать или более или все из следующих функциональных свойств:

(1) связывание с растворимым TIM3 человека, например, с K_D 10 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(2) связывание с растворимым TIM3 яванского макака, например, с K_D 100 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 100 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(3) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с EC_{50} 1 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 1 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(4) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(5) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 20 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 20 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(6) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(7) индуцирование или усиление активации Т-клеток (например, путем блокирования или уменьшения ингибирующего эффекта TIM3), о чем свидетельствует (i) увеличение производства IFN- γ в экспрессирующих TIM3 Т-клетках (например, Th1-клетках или TIL) и/или (ii) усиление пролиферации экспрессирующих TIM3 Т-клеток (например, Th1-клеток или TIL), например, как описано в примерах;

(8) стимуляция пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), например, как описано в примерах;

(9) ингибирование связывания фосфатидилсерина с TIM3, например, как измерено посредством анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3, например, как описано в примерах;

(10) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;

(11) связывание с одной из следующих областей внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) и (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297), например, как описано в примерах;

(12) сниженное связывание с TIM3 человека, в котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 (как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены на другую аминокислоту относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа, например, как описано в примерах;

(13) конкурирование в одном или обоих направлениях за связывание с TIM3 человека с антителом, содержащим домены VH и VL любого из 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или TIM3.7, TIM3.8, TIM3.10, TIM3.11, TIM3.12, TIM3.13, TIM3.14, TIM3.15, TIM3.16, TIM3.17 и TIM3.18, например, как описано в примерах;

(14) связывание с областями TIM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹WQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено посредством HDX-MS, например, как описано в примерах;

(15) наличие варибельных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено рентгеновской кристаллографией (например, описанной в примерах; нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)); и/или

(16) (a) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 аминокислот C58, P59, F61, E62, C63, R111, D120 и необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO:

286 (фиг. 20)) заменены на другую аминокислоту относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа; (b) связывание с ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹QIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством HDX-MS, как описано в примерах; и/или (c) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

Такие антитела включают в себя, например, человеческие антитела, гуманизированные антитела или химерные антитела.

Согласно одному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с конформационным эпитопом.

Согласно одному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с аминокислотными остатками в пределах следующей области внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290):

SEVEYRAEVLGQNAVLPFCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE⁶²CGNVVLR¹²⁷TD¹²⁷ER¹²⁷DV¹²⁷NY¹²⁷WT¹²⁷SR¹²⁷Y¹²⁷WL¹²⁷N

GDFR¹²⁷K¹²⁷GD¹²⁷VS¹²⁷LT¹²⁷IE¹²⁷NV¹²⁷TL¹²⁷AD¹²⁷SG¹²⁷I¹²⁷YC¹²⁷CR¹²⁷I¹²⁷Q¹²⁷IP¹²⁷G¹²⁷IM¹²⁷ND (SEQ ID NO: 299),

Соответствующей аминокислотным остаткам 1-99 внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 299) или аминокислотным остаткам 22-120 TIM3 человека, характеризующегося последовательностью SEQ ID NO: 286.

Согласно одному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с аминокислотными остатками в пределах следующей области внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): CPVFECG (SEQ ID NO: 296), соответствующей аминокислотным остаткам 37-43 внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290).

Согласно одному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с аминокислотными остатками в следующей области внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): WTSRYWLN¹²⁷GDFR (SEQ ID NO: 297), соответствующей аминокислотным остаткам 57-83 внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290).

Согласно одному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с аминокислотными остатками в следующей области внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298), соответствующей аминокислотным остаткам 90-99 внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290).

Согласно одному варианту осуществления антитела к TIM3 характеризуются тем же профилем связывания с человеческим TIM3 дикого типа и мутированным, что и у одного или нескольких антител 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 и TIM3.2-TIM3.18. Согласно одному варианту осуществления антитело к TIM3 связывается с аминокислотными остатками в следующих областях внеклеточного домена зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): CPVFECG (SEQ ID NO: 296), WTSRYWLN¹²⁷GDFR¹²⁷K¹²⁷GD¹²⁷VS¹²⁷LT¹²⁷IE¹²⁷NV¹²⁷TL¹²⁷AD (SEQ ID NO: 297) и/или RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с (1) ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) или (2) ⁴⁰YTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 369), ⁶⁶WLRTDERDVNY⁷⁷ (SEQ ID NO: 370), ⁷⁸WTSRYWLN¹²⁷GDFR¹²⁷K¹²⁷GD¹²⁷VS¹²⁷L¹²⁷ (SEQ ID NO: 371), ¹¹⁰CRIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 372) и ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено, например, посредством HDX-MS, как описано, например, в примерах. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 взаимодействует с областями аминокислотных остатков 40-62 и 111-127 hTIM3, но существенно не взаимодействует с другими областями, такими как область, которая представляет собой N-концевую по отношению к аминокислотному остатку Y40, область, которая расположена между аминокислотными остатками E62 и R111, и область, которая представляет собой C-концевую по отношению к аминокислотному остатку L127, как определено посредством HDX-MS, как описано, например, в примерах.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 характеризуется сниженным связыванием с TIM3 человека, в котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 (как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены на другую аминокислоту относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа и антитело связывается с (1) ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹PJQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) или (2) ⁴⁰YTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 369), ⁶⁶WLRTDERDVNY⁷⁷ (SEQ ID NO: 370), ⁷⁸WTSRYWLN¹²⁷GDFR¹²⁷K¹²⁷GD¹²⁷VS¹²⁷L¹²⁷ (SEQ ID NO: 371), ¹¹⁰CRIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 372) и ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством FTOX-MS, как описано, например, в примерах.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 характеризуется тем же профилем связывания с человеческим TIM3 дикого типа и мутированным, что и у TIM3.18.IgG1.3 или 13A3, т.е. антитело:

(i) связывается с (1) ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373) и, например, но существенно не связывается с (a) пептидами, содержащими последовательности, расположенные на N-конце от аминокислотного остатка

49; (b) пептидами, содержащими последовательности, расположенные между аминокислотным остатком 62 и 111 (например, ⁷⁸WTSRYWLNQDFRKGDVSL⁹⁵ (SEQ ID NO: 371)); и (c) пептидами, содержащими последовательности, которые расположены на С-конце от аминокислотного остатка 127, как определено посредством FTOX-MS (например, как описано в примерах);

(ii) не связывается с TIM3 человека или характеризуется значительно сниженным связыванием с TIM3 человека, имеющим одну или несколько из следующих аминокислотных мутаций, как определено, например, с использованием способа поверхностного дрожжевого дисплея (например, как описано в примерах): C58, P59, F61, E62, C63, R111, D120 и, необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)); и/или (iii) содержит переменные области тяжелой цепи и/или легкой цепи, взаимодействующие по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено рентгеновской кристаллографией (например, как описано в примерах; нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелую цепь выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 72-111, 305-354, 325-326 и 339-340, и/или легкую цепь выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29-33.

Как дополнительно обсуждается в настоящем документе, константная область тяжелой цепи описанных в настоящем документе антител к TIM3 может характеризоваться любым изотипом, например, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 или их комбинации и/или их модификации. Антитело к TIM3 может иметь эффекторную функцию или может иметь сниженную или отсутствующую эффекторную функцию. Согласно определенным вариантам осуществления антитела к TIM3 содержат модифицированную константную область тяжелой цепи, которая обеспечивает улучшенные свойства антитела.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит тяжелую цепь и легкую цепь, причем тяжелую цепь выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 72-111 и 349-352, и/или легкую цепь выбирают из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29-33.

III. Антитела, характеризующиеся наличием определенных последовательностей зародышевой линии.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит переменную область тяжелой цепи из конкретного гена тяжелой цепи иммуноглобулина зародышевой линии и/или переменную область легкой цепи из конкретного гена легкой цепи иммуноглобулина зародышевой линии.

Как показано в настоящем документе, были получены человеческие антитела, специфические к TIM3, которые содержат переменную область тяжелой цепи, которая представляет собой продукт гена VH 4-39, гена VH 4-59, гена VH 1-46, гена VH 3-11, гена VH 4-17, гена VH 3-10, гена VH 6-19, гена VH 6-13, гена VH JH5b и/или гена VH JH6b зародышевой линии человека или получена из него. Соответственно, в настоящем документе предусмотрены выделенные моноклональные антитела или их антигенсвязывающие части, содержащие переменную область тяжелой цепи, которая представляет собой продукт гена VH зародышевой линии человека, выбранного из группы, состоящей из: VH 4-39, VH 4-59, VH 1-46, VH 3-11, VH 4-17, VH 3-10, VH 6-19, VH 6-13, VH JH5b, VH JH6b и любой их комбинации, или получена из него.

Были получены человеческие антитела, специфические к TIM3, которые содержат переменную область легкой цепи, которая представляет собой продукт гена VK A27, гена VK JK5, гена VK JK4, гена VK L18 и/или гена VK JK1 зародышевой линии человека или получена из него. Соответственно, в настоящем документе предусмотрены выделенные моноклональные антитела или их антигенсвязывающие части, содержащие переменную область легкой цепи, которая представляет собой продукт гена VK зародышевой линии человека, выбранного из группы, состоящей из: VK A27, VK JK5, VK JK4, VK L18, VK JK1 и любой их комбинации, или получена из него.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 включают в себя антитела, содержащие переменную область тяжелой цепи, которая представляет собой продукт одного из перечисленных выше генов VH зародышевой линии человека или получена из него, а также содержащие переменную область легкой цепи, которая представляет собой продукт одного из перечисленных выше генов VK зародышевой линии человека или получена из него, как показано на фигурах.

Как используется в настоящем документе, человеческое антитело содержит переменные области тяжелой и легкой цепи, которые представляют собой "продукт" или "получены из" конкретной последовательности зародышевой линии, если переменные области антитела получены из системы, которая использует гены иммуноглобулина зародышевой линии человека. Такие системы включают в себя иммунизацию трансгенной мыши, несущей гены человеческого иммуноглобулина, представляющим интерес антигеном или скрининг библиотеки генов иммуноглобулина человека, представленной на фаге, представляющим интерес антигеном. Антитело человека, которое представляет собой "продукт" или "получено из" последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, можно идентифицировать как таковое путем сравнения аминокислотной последовательности антитела человека с аминокислотными последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека и выбора последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, которая является наиболее близкой по после-

довательности (то есть наибольший % идентичности) по отношению к последовательности человеческого антитела. Человеческое антитело, которое представляет собой "продукт" или "получено из" конкретной последовательности иммуноглобулина зародышевой линии человека, может содержать аминокислотные различия по сравнению с последовательностью зародышевой линии, например, из-за встречающихся в природе соматических мутаций или преднамеренного введения сайт-направленных мутаций. Однако выбранное человеческое антитело, как правило, по меньшей мере на 90% идентично по аминокислотной последовательности аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека, и содержит аминокислотные остатки, которые идентифицируют человеческое антитело как человеческое по сравнению с аминокислотными последовательностями иммуноглобулина зародышевой линии других видов (например, последовательности зародышевой линии мыши). В определенных случаях человеческое антитело может быть по меньшей мере на 95% или даже по меньшей мере на 96, 97, 98 или 99% идентичным по аминокислотной последовательности аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека. Как правило, человеческое антитело, полученное из определенной последовательности зародышевой линии человека, будет проявлять не более 10 аминокислотных отличий от аминокислотной последовательности, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии человека. В определенных случаях человеческое антитело может демонстрировать не более 5 или даже не более 4, 3, 2 или 1 аминокислотного различия с аминокислотной последовательностью, кодируемой геном иммуноглобулина зародышевой линии.

IV. Гомологичные антитела.

В настоящем документе охвачены антитела, содержащие переменные области тяжелой и легкой цепи, содержащие аминокислотные последовательности, которые гомологичны аминокислотным последовательностям описанным в настоящем документе антител к TIM3, и причем антитела сохраняют желаемые функциональные свойства описанных в настоящем документе антител к TIM3.

Например, выделенное антитело к TIM3 или его антигенсвязывающая часть могут содержать переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, причем:

(а) переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34-40, 112-121 и 364, или содержит 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 или 1-50 аминокислотных изменений (т.е. аминокислотных замен, добавлений или делеций) относительно аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 34-40, 112-121 и 364, причем необязательно переменная область тяжелой цепи содержит последовательности CDR одного из описанных в настоящем документе антител к TIM3;

(б) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 60-63 или содержащей 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 или 1-50 аминокислотных изменений (т.е. аминокислотных замен, добавлений или делеций) относительно аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 60-63, причем необязательно переменная область легкой цепи содержит последовательности CDR одного из описанных в настоящем документе антител к TIM3;

(с) антитело специфически связывается с TIM3 человека и

(d) антитело проявляет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или все следующие функциональные свойства:

(1) связывание с растворимым TIM3 человека, например, с K_D 10 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(2) связывание с растворимым TIM3 яванского макака, например, с K_D 100 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 100 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(3) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с EC_{50} 1 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 1 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(4) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(5) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 20 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 20 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(6) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(7) индуцирование или усиление активации Т-клеток (например, путем блокирования или уменьшения ингибирующего эффекта TIM3), о чем свидетельствует (i) увеличение производства IFN- γ в экспрессирующих TIM3 Т-клетках (например, Th1-клетках или TIL) и/или (ii) усиление пролиферации экс-

прессирующих ТИМЗ Т-клеток (например, Th1-клеток или TIL), например, как описано в примерах;

(8) стимуляция пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), например, как описано в примерах;

(9) ингибирование связывания фосфатидилсерина с ТИМЗ, например, как измерено с помощью анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3, например, как описано в примерах;

(10) отсутствие интернализации или подавления ТИМЗ клеточной поверхности при связывании с ТИМЗ на клетках;

(11) связывание с одной из следующих областей внеклеточного домена ТИМЗ человека (SEQ ID NO: 290): (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) и (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297), например, как описано в примерах;

(12) наличие сниженного связывания с ТИМЗ человека, в котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 (как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим ТИМЗ дикого типа, например, как описано в примерах;

(13) конкурирование в одном или обоих направлениях за связывание с ТИМЗ человека с антителом, содержащим домены VH и VL любого из 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или ТИМЗ.7, ТИМЗ.8, ТИМЗ.10, ТИМЗ.11, ТИМЗ.12, ТИМЗ.13, ТИМЗ.14, ТИМЗ.15, ТИМЗ.16, ТИМЗ.17 и ТИМЗ.18, например, как описано в примерах;

(14) связывание с областями ТИМЗ человека ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено посредством HDX-MS, например, как описано в примерах;

(15) наличие переменных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами ТИМЗ человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено с помощью рентгеновской кристаллографии (например, описано в примерах; нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)), и/или

(16) (a) наличие сниженного связывания с ТИМЗ человека, в котором 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 аминокислот C58, P59, F61, E62, C63, R111, D120 и, необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим ТИМЗ дикого типа; (b) связывание с ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством HDX-MS, как описано в примерах; и/или (c) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с ТИМЗ человека 13A3 или ТИМЗ.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

Согласно различным вариантам осуществления антитело может демонстрировать одно или несколько, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более или все функциональные свойства, указанные как (1) - (16) выше. Антитело может представлять собой, например, человеческое антитело, гуманизованное антитело или химерное антитело.

Выделенное антитело к ТИМЗ или его антигенсвязывающая часть могут содержать тяжелую цепь и легкую цепь, причем:

(a) тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-28, 72-111 и 349-352, или содержит 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 или 1-50 аминокислотных изменений (т.е. аминокислотных замен, добавлений или делеций) относительно аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1-28, 72-111 и 349-352, при условии, что согласно некоторым вариантам осуществления, если последовательность представляет собой последовательность тяжелой цепи без эффекторных функций, мутации, приводящие к получению тяжелой цепи без эффекторных функций, не модифицируются (например, никаких модификаций не вносится в R214, A234, E235, A237, S330 и S331) для константных областей IgG1.1, и никаких модификаций не вносится в R214, A234 и E235 для константных областей IgG1.3, причем необязательно, переменная область тяжелой цепи содержит последовательности CDR одного из описанных в настоящем документе антител к ТИМЗ;

(b) легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29-31, или содержит 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 или 1-50 аминокислотных изменений (т.е. аминокислотных замен, добавлений или делеций) относительно аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 29-31, причем необязательно переменная область легкой цепи содержит CDR последовательности одного из описанных в настоящем документе антител к ТИМЗ;

(c) антитело специфически связывается с ТИМЗ человека и

(d) антитело проявляет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или все следующие функциональ-

ные свойства:

(1) связывание с растворимым TIM3 человека, например, с K_D 10 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(2) связывание с растворимым TIM3 яванского макака, например, с K_D 100 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 100 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(3) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с EC_{50} 1 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 1 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(4) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(5) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 20 мкг/мл или менее (например, от 0,01 до 20 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(6) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(7) индуцирование или усиление активации Т-клеток (например, путем блокирования или снижения ингибирующего эффекта TIM3), о чем свидетельствует (i) увеличение производства IFN- γ в экспрессирующих TIM3 Т-клетках (например, Th1-клетках или TIL) и/или (ii) усиление пролиферации экспрессирующих TIM3 Т-клеток (например, Th1-клеток или TIL), например, как описано в примерах;

(8) стимуляция пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), например, как описано в примерах;

(9) ингибирование связывания фосфатидилсерина с TIM3, например, как измерено с помощью анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3, например, как описано в примерах;

(10) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;

(11) связывание с одной из следующих областей внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) и (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297), например, как описано в примерах;

(12) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 (как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа, например, как описано в примерах;

(13) конкурирование в одном или обоих направлениях за связывание с TIM3 человека с антителом, содержащим домены VH и VL любого из 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или TIM3.7, TIM3.8, TIM3.10, TIM3.11, TIM3.12, TIM3.13, TIM3.14, TIM3.15, TIM3.16, TIM3.17 и TIM3.18, например, как описано в примерах;

(14) связывание с областями TIM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено посредством HDX-MS, например, как описано в примерах;

(15) наличие переменных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено с помощью рентгеновской кристаллографии (например, описано в примерах; нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)), и/или

(16) (a) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 аминокислот C58, P59, F61, E62, C63, R111, D120 и, необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа; (b) связывание с ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹QIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством HDX-MS, как описано в примерах; и/или (c) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

Также предусмотрены антитела к TIM3, содержащие CDR1 VH, CDR2 VH, CDR3 VH, CDR1 VL, CDR2 VL и/или CDR3 VL, которые отличаются от соответствующих CDR 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18 на 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 или 1-5 аминокислотных изменений (т.е. аминокислотных замен, добавлений или делеций). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит 1-5 аминокислотных изменений в каждой из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 CDR относительно соответствующей последовательности в 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2 - TIM3.18. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит в общей

сложности 1-5 аминокислотных изменений во всех CDR относительно CDR в 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любом из TIM3.2-TIM3.18.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит CDR VH и VL, состоящие из аминокислот 13A3, причем одна или несколько аминокислот в одной или нескольких CDR представляют собой таковые одного из других раскрытых в настоящем документе антител к TIM3.

Например, согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит CDR1 VH, содержащую одну или несколько аминокислотных модификаций по отношению к SRSYYWG (SEQ ID NO: 41), и может содержать, например, следующую вырожденную последовательность: $X_1X_2X_3X_4YX_5X_6$ (SEQ ID NO: 282), где X_1 представляет собой любую аминокислоту, например, S или ее отсутствие; X_2 представляет собой любую аминокислоту, например, R или ее отсутствие; X_3 представляет собой любую аминокислоту, например, S, R или D; X_4 представляет собой любую аминокислоту, например, Y или H; X_5 представляет собой любую аминокислоту, например, W или M, и X_6 представляет собой любую аминокислоту, например, G, N, S или H.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит CDR2 VH, содержащую одну или несколько аминокислотных модификаций по отношению к SIYYSGFTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 46) и может содержать, например, следующую вырожденную последовательность: $X_1IX_2X_3X_4GX_5X_6X_7X_8YX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 283), где X_1 представляет собой любую аминокислоту, например, S, Y, I или F; X_2 представляет собой любую аминокислоту, например, Y, H, N или S; X_3 представляет собой любую аминокислоту, например, Y, P, G, T или S; X_4 представляет собой любую аминокислоту, например, S, T, R или G; X_5 представляет собой любую аминокислоту, например, F, S или D; X_6 представляет собой любую аминокислоту, например, S, T или I; X_7 представляет собой любую аминокислоту, например, I или ее отсутствие; X_8 представляет собой любую аминокислоту, например, Y, N или I; X_9 представляет собой любую аминокислоту, например, N, Q, S или A; X_{10} представляет собой любую аминокислоту, например, P, S, Q или D; X_{11} представляет собой любую аминокислоту, например, S или K; X_{12} представляет собой любую аминокислоту, например, L, F или V; X_{13} представляет собой любую аминокислоту, например, K или Q, и X_{14} представляет собой любую аминокислоту, например, S или G.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит CDR3 VH, содержащую одну или несколько аминокислотных модификаций по отношению к GGPYGDYAHWFDP (SEQ ID NO: 53), и может содержать, например, следующую вырожденную последовательность:

$X_1IX_2X_3X_4GX_5X_6X_7X_8YX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}$ (SEQ ID NO: 284),

где X_1 представляет собой любую аминокислоту, например, D, E или ее отсутствие; X_2 представляет собой любую аминокислоту, например, F, G или ее отсутствие; X_3 представляет собой любую аминокислоту, например, Y или ее отсутствие; X_4 представляет собой любую аминокислоту, например, G, S или ее отсутствие; X_5 представляет собой любую аминокислоту, например, G, T или S; X_6 представляет собой любую аминокислоту, например, G или S; X_7 представляет собой любую аминокислоту, например, N, W или ее отсутствие; X_8 представляет собой любую аминокислоту, например, Y, S, E или ее отсутствие; X_9 представляет собой любую аминокислоту, например, Y или ее отсутствие; X_{10} представляет собой любую аминокислоту, например, P или Y; X_{11} представляет собой любую аминокислоту, например, D или ее отсутствие; X_{12} представляет собой любую аминокислоту, например, Y или ее отсутствие; X_{13} представляет собой любую аминокислоту, например, A или ее отсутствие; X_{14} представляет собой любую аминокислоту, например, H или ее отсутствие; X_{15} представляет собой любую аминокислоту, например, W или ее отсутствие; X_{16} представляет собой любую аминокислоту, например, F или M; X_{17} представляет собой любую аминокислоту, например, D или E, и X_{18} представляет собой любую аминокислоту, например, P, I, V, Y или L.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53-59 и 126-129.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 64 или SEQ ID NO: 65.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 66 или SEQ ID NO: 67.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит CDR3 VL, содержащую одну или несколько аминокислотных модификаций по отношению к QQYGSSPIT (SEQ ID NO: 68), и может содержать, например, следующую вырожденную последовательность: $QQX_1X_2SX_3X_4X_5T$ (SEQ ID NO: 285), где X_1 представляет собой любую аминокислоту, например, F или Y; X_2 представляет собой любую аминокислоту, например, N или G; X_3 представляет собой любую аминокислоту, например, Y или S; X_4 представляет собой любую аминокислоту, например, P или ее отсутствие; X_5 представляет собой любую аминокислоту, например, I, R или L.

Антитела, имеющие последовательности с гомологией таковых у 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18, например, области VH и VL в SEQ ID NO: 34-40, 112-121 или 364 и SEQ ID NO: 60-63, соответственно, или тяжелые и легкие цепи в SEQ ID NO: 1-28, 72-111 или 349-352 и SEQ ID NO: 29-33, соответственно, или CDR, могут быть получены путем мутагенеза (например, сайт-

направленного или ПЦР-опосредованного мутагенеза) молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих SEQ ID NO: 167-173 и/или SEQ ID NO: 193-196 или SEQ ID NO: 134-161 и/или SEQ ID NO: 162-166, с последующим исследованием кодированного измененного антитела на наличие сохраненной функции (т.е. функций, представленных в (1) - (16) выше) с использованием описанных в настоящем документе функциональных анализов.

V. Антитела с консервативными модификациями.

Антитела к TIM3 могут содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, причем одна или несколько из этих последовательностей CDR содержат определенные аминокислотные последовательности, основанные на описанных в настоящем документе антителах к TIM3 (например, 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любые из TIM3.2-TIM3.18), или их консервативные модификации, и причем антитела сохраняют желаемые функциональные свойства описанных в настоящем документе антител к TIM3. Соответственно, выделенное антитело к TIM3 или его антигенсвязывающая часть могут содержать вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, причем:

(a) последовательность CDR3 вариабельной области тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 53-59 и 126-129 и их консервативных модификаций, например, 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 или 1-5 консервативных аминокислотных замен, причем необязательно вариабельная область тяжелой цепи содержит последовательности CDR одного из описанных в настоящем документе антител к TIM3;

(b) последовательность CDR3 вариабельной области легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 68-71 и ее консервативных модификаций, например, 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 или 1-5 консервативных аминокислотных замен, причем необязательно вариабельная область легкой цепи содержит последовательности CDR одного из описанных в настоящем документе антител к TIM3;

(c) антитело специфически связывается с TIM3 человека и

(d) антитело проявляет 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или все следующие признаки:

(1) связывание с растворимым TIM3 человека, например, с K_D 10 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(2) связывание с растворимым TIM3 яванского макака, например, с K_D 100 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 100 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(3) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с EC_{50} 1 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 1 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(4) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(5) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 20 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 20 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(6) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(7) индуцирование или усиление активации Т-клеток (например, путем блокирования или снижения ингибирующего эффекта TIM3), о чем свидетельствует (i) увеличение производства IFN- γ в экспрессирующих TIM3 Т-клетках (например, Th1-клетках или TIL) и/или (ii) усиление пролиферации экспрессирующих TIM3 Т-клеток (например, Th1-клеток или TIL), например, как описано в примерах;

(8) стимуляция пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), например, как описано в примерах;

(9) ингибирование связывания фосфатидилсерина с TIM3, например, как измерено с помощью анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3, например, как описано в примерах;

(10) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;

(11) связывание с одной из следующих областей внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) и (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297), например, как описано в примерах;

(12) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 (как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой

относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа, например, как описано в примерах;

(13) конкурирование в одном или обоих направлениях за связывание с TIM3 человека с антителом, содержащим домены VH и VL любого из 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или TIM3.7, TIM3.8, TIM3.10, TIM3.11, TIM3.12, TIM3.13, TIM3.14, TIM3.15, TIM3.16, TIM3.17 и TIM3.18, например, как описано в примерах;

(14) связывание с областями TIM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено посредством HDX-MS, например, как описано в примерах;

(15) наличие переменных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено с помощью рентгеновской кристаллографии (например, описано в примерах; нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)), и/или

(16) (a) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 аминокислот C58, P59, F61, E62, C63, R111, D120 и, необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа; (b) связывание с ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹QIPGIMNDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNLKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством HDX-MS, как описано в примерах; и/или (c) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

Согласно одному варианту осуществления последовательность CDR2 переменной области тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 46-52 и 122-125 и их консервативных модификаций, например, 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 или 1-5 консервативных аминокислотных замен; и последовательность CDR2 переменной области легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 66-67 и их консервативных модификаций, например, 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 или 1-5 консервативных аминокислотных замен.

Согласно другому варианту осуществления последовательность CDR1 переменной области тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 41-45 и их консервативных модификаций, например, 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 или 1-5 консервативных аминокислотных замен; и последовательность CDR1 переменной области легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 64-65 и их консервативных модификаций, например, 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4 или 1-5 консервативных аминокислотных замен.

Согласно различным вариантам осуществления антитело может демонстрировать одно или несколько, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более или все функциональные свойства, представленные как (1) - (16) выше. Такие антитела могут представлять собой, например, человеческие антитела, гуманизированные антитела или химерные антитела.

Консервативные аминокислотные замены также могут быть сделаны в частях антител, отличных от CDR, или в дополнение к ним. Например, консервативные аминокислотные модификации могут быть сделаны в каркасной области или в области Fc. Переменная область или тяжелая или легкая цепь может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25 или 1-50 консервативных аминокислотных замен относительно последовательностей предусмотренных в настоящем документе антител к TIM3. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит комбинацию консервативной и неконсервативной аминокислотной модификации.

VI. Антитела, связывающиеся с тем же эпитопом или конкурирующие за связывание.

Также предусмотрены антитела, которые конкурируют за связывание с TIM3 человека с одним или несколькими конкретными описанными в настоящем документе антителами к TIM3 (например, антителами 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 и/или TIM3.2-TIM3.18). Такие конкурирующие антитела могут быть идентифицированы на основе их способности конкурентно ингибировать связывание с TIM3 человека одного или нескольких моноклональных антител 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 и/или TIM3.2-TIM3.18 в стандартных анализах связывания TIM3. Например, можно использовать стандартные анализы ELISA или конкурентные анализы ELISA, в которых рекомбинантный белок TIM3 человека иммобилизуют на планшете, добавляют различные концентрации немеченого первого антитела, планшет промывают, добавляют меченое второе антитело, и измеряют количество метки. Если увеличивающаяся концентрация немеченого (первого) антитела (также называемого "блокирующим антителом") ингибирует связывание меченого (второго) антитела, считается, что первое антитело ингибирует связывание второго антитела с мишенью на планшете или, как говорят, конкурирует за связывание со вторым антителом. Дополнительно или альтернативно, можно использовать анализ Вiasoge для оценки способности антител конкурировать. Способность исследуемого антитела ингибировать связывание описанного в настоящем документе антитела к TIM3 с TIM3 демонстрирует, что исследуемое антитело может конкури-

ровать с антителом за связывание с ТИМЗ человека.

Соответственно, в настоящем документе предусмотрены антитела к ТИМЗ, которые ингибируют связывание описанных в настоящем документе антител к ТИМЗ с ТИМЗ на клетках, например, активированных Т-клетках, по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% и/или чье связывание с ТИМЗ человека на клетках, например, активированных Т-клетках, ингибируется по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%, например, как измерено посредством ELISA или FACS, например, с использованием анализа, описанного в следующем абзаце.

Иллюстративный конкурентный эксперимент для определения того, например, блокирует ли первое антитело связывание (т.е. "конкурирует") второго антитела, может быть проведен, как описано в примерах, или следующим образом: активированные Т-клетки человека получают следующим образом: мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяют из цельной крови человека с использованием градиента фиколла и активируют с помощью 10 мкг/мл фитогемагглютинаина (PHA-L) (USBiol # P3370-30) и 200 МЕ/мл рекомбинантного IL-2 (Peprotech # 200-02) в течение 3 дней. Активированные Т-клетки ресуспендируют в буфере FACS (PBS с 5% фетальной бычьей сывороткой) и высевают в количестве 10^5 клеток образца на лунку в 96-луночный планшет. Планшет ставят на лед с последующим добавлением неконъюгированного первого антитела в диапазоне концентраций от 0 до 50 мкг/мл (трехкратное титрование, начиная с самой высокой концентрации 50 мкг/мл). Неродственный IgG можно использовать в качестве изотипического контроля для первого антитела и добавлять в тех же концентрациях (трехкратное титрование, начиная с самой высокой концентрации 50 мкг/мл). Образец, предварительно инкубированный с немеченым вторым антителом в концентрации 50 мкг/мл, может быть включен в качестве положительного контроля для полного блокирования (100% ингибирование), а образец без антител в первичной инкубации можно использовать в качестве отрицательного контроля (отсутствие конкуренции; ингибирование 0%). Через 30 минут инкубации добавляют меченое, например, биотинилированное, второе антитело в концентрации 2 мкг/мл на лунку без промывки. Образцы инкубируют еще 30 минут на льду. Несвязанные антитела удаляют, промывая клетки буфером FACS. Связанное с клеткой второе антитело обнаруживают с помощью средства, которое обнаруживает метку, например, PE-конъюгированный стрептавидин (Invitrogen, номер в каталоге S21388) для обнаружения биотина. Образцы собирают на проточном цитометре FACS Calibur (BD, San Jose) и анализируют с помощью программного обеспечения FLOWJO® (Tree Star, Inc, Ashland, OR). Результаты могут быть представлены в виде % ингибирования (т.е. вычитания из 100% количества метки в каждой концентрации, деленное на количество метки, полученное без блокирующего антитела). Как правило, тот же самый эксперимент затем проводят в обратном порядке, то есть первое антитело является вторым антителом, а второе антитело является первым антителом.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело по меньшей мере частично (например, по меньшей мере на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 или 90%) или полностью (на 100%) блокирует связывание другого антитела с мишенью, например, ТИМЗ человека, или его части, и независимо от того, происходит ли ингибирование, когда одно или другое антитело является первым антителом. Первое и второе антитело "перекрестно блокируют" связывание друг друга с мишенью, когда антитела конкурируют друг с другом в обоих направлениях, т.е. в конкурентных экспериментах, в которых первое антитело добавлено первым, и в конкурентных экспериментах, в которых второе антитело добавлено первым.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к ТИМЗ связываются с тем же эпитопом, что и описанные в настоящем документе антитела к ТИМЗ (например, 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 и/или ТИМЗ.2-ТИМЗ.18), например, как определено посредством данного способа картирования эпитопов. Способы определения антител, которые связываются с "тем же эпитопом на ТИМЗ", что и описанные в настоящем документе антитела к ТИМЗ, включают в себя, например, способы картирования эпитопов, такие как рентгеновский анализ кристаллов комплексов антиген:антитело, который обеспечивает атомное разрешение эпитопа. Другие способы контролируют связывание антитела с фрагментами антигена или мутированными вариациями антигена, где потеря связывания из-за модификации аминокислотного остатка в последовательности антигена часто считается показателем эпитопного компонента (см. фиг. 20). Кроме того, также могут быть использованы вычислительные комбинаторные способы картирования эпитопов. Способы могут также полагаться на способность представляющего интерес антитела аффинно выделять специфические короткие пептиды (в нативной трехмерной форме или в денатурированной форме) из комбинаторных пептидных библиотек фаговых дисплеев. Пептиды затем рассматриваются как направление для определения эпитопа, соответствующего антителу, используемому для скрининга библиотеки пептидов. Для картирования эпитопов также были разработаны вычислительные алгоритмы, которые, как было показано, отображают конформационные прерывающиеся эпитопы.

Антитела, которые конкурируют за связывание с тем же эпитопом или связываются с тем же эпитопом, что и описанные в настоящем документе антитела к ТИМЗ, могут быть идентифицированы с использованием известных в настоящей области техники способов. Например, мышей можно иммунизировать ТИМЗ человека, как описано в настоящем документе, получить гибридомы и полученные моноклональные антитела подвергнуть скринингу на способность конкурировать с описанным в настоящем докумен-

те антителом за связывание с ТИМЗ человека. Мышей также можно иммунизировать меньшим фрагментом ТИМЗ, содержащим эпитоп, с которым связывается антитело. Эпитоп или область, содержащую эпитоп, можно локализовать, например, путем скрининга на связывание с серией перекрывающихся пептидов, охватывающих ТИМЗ. Альтернативно, способ Jespers et al., *Biotechnology* 12:899, 1994 может быть использован для направления отбора антител, содержащих такой же эпитоп и, следовательно, характеризующихся схожими свойствами с описанным в настоящем документе антителом к ТИМЗ. Используя фазовый дисплей, сначала тяжелая цепь антитела к ТИМЗ образует пару с репертуаром (человеческих) легких цепей для выбора связывающего ТИМЗ антитела, а затем новая легкая цепь образует пару с репертуаром (человеческих) тяжелых цепей для выбора связывающего ТИМЗ (человека) антитела, имеющего тот же эпитоп или эпитопную область, что и описанное в настоящем документе антитело к ТИМЗ. Альтернативно варианты описанного в настоящем документе антитела могут быть получены посредством мутагенеза кДНК, кодирующей тяжелые и легкие цепи антитела.

Сканирующий аланином мутагенез, как описано в публикации Cunningham and Wells (1989) *Science* 244: 1081-1085, или некоторая другая форма точечного мутагенеза аминокислотных остатков в ТИМЗ также могут быть использованы для получения характеристических связывания антитела к ТИМЗ.

Характеристики связывания специфического антитела также можно определить путем оценки связывания антитела с пептидами, содержащими фрагменты ТИМЗ, например, денатурированные или денатурированные фрагменты. Серия перекрывающихся пептидов, охватывающих последовательность ТИМЗ (например, ТИМЗ человека), может быть синтезирована и подвергнута скринингу на связывание, например, в прямом анализе ELISA, конкурентном анализе ELISA (где пептид оценивают по его способности предотвращать связывание антитела с ТИМЗ, связанным с лункой микропланшета) или на чипе.

Характеристики связывания антител к ТИМЗ также можно получить с помощью основанных на MS отпечатков белка, таких как масс-спектрометрия водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS) и быстрое фотохимическое окисление белков (FPOP). HDX-MS может проводиться, например, как описано в публикации международной заявки WO 2015/18735 и в публикации Wei et al. (2014) *Drug Discovery Today* 19:95, способы которого специально включены в настоящий документ посредством ссылки. FPOP может проводиться, как описано, например, в публикации Hambley and Gross (2005) *J. American Soc. Mass Spectrometry* 16: 2057, способы которой специально включены в настоящий документ посредством ссылки.

Характеристики связывания антител к ТИМЗ также могут быть получены структурными способами, такими как определение структуры рентгеновских кристаллов (например, WO 2005/044853), молекулярное моделирование и спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), включая в себя определение ЯМР скорости обмена H-D лабильных амидных водородов в ТИМЗ, когда они свободны и связаны в комплексе с представляющим интерес антителом (Zinn-Justin et al. (1992) *Biochemistry* 31, 11335-11347; Zinn-Justin et al. (1993) *Biochemistry* 32, 6884-6891).

Что касается рентгеновской кристаллографии, кристаллизация может быть выполнена с использованием любого из известных способов в настоящей области техники (например, Giege et al. (1994) *Acta Crystallogr. D* 50: 339-350; McPherson (1990) *Eur. J Biochem.* 189: 1-23), включая в себя микрообъем (например, Chayen (1997) *Structure* 5: 1269-1274), способ висюльки капли посредством диффузии в парах (например, McPherson (1976) *J. Biol. Chem.* 251: 6300-6303), посев и диализ. Желательно использовать препарат белка, характеризующийся концентрацией по меньшей мере приблизительно 1 мг/мл или от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 20 мг/мл. Кристаллизация может быть наилучшим образом достигнута в растворе осадителя, содержащем полиэтиленгликоль 1000-20000 (ПЭГ; средняя молекулярная масса в диапазоне от приблизительно 1000 до приблизительно 20000 Да), от приблизительно 5000 до приблизительно 7000 Да или приблизительно 6000 Да, с концентрациями в диапазоне от приблизительно 10% до приблизительно 30% (масса/объем). Также может быть желательным включить стабилизирующее белок средство, например, глицерин, в концентрации от приблизительно 0,5% до приблизительно 20%. Подходящая соль, такая как хлорид натрия, хлорид лития или цитрат натрия, также может быть желательна в растворе осадителя в концентрации в диапазоне от приблизительно 1 мМ до приблизительно 1000 мМ. Осадитель забуферивают до pH от приблизительно 3,0 до приблизительно 5,0. Конкретные буферы, используемые в растворе осадителя, могут варьировать и хорошо известны в настоящей области техники (Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, Third ed., (1994) Springer-Verlag, New York). Примеры применимых буферов включают в себя, без ограничения, HEPES, Трис, MES и ацетат. Кристаллы можно выращивать при широком диапазоне температур, включая в себя 2, 4, 8 и 26°C.

Кристаллы антитела:антигена могут быть изучены с использованием хорошо известных способов дифракции рентгеновских лучей и могут быть уточнены с использованием компьютерного программного обеспечения, такого как X-PLOR (Йельский университет, 1992, распространяемый Molecular Simulations, Inc.; смотрите, например, Blundell & Johnson (1985) *Мей. Enzymol.* 114 & 115, H. W. Wyckoff et al., eds., Academic Press; публикация патентной заявки США № 2004/0014194) и BUSTER (Bricogne (1993) *Acta Cryst. D* 49: 37-60; Bricogne (1997) *Meth. Enzymol.* 276A: 361-423, Carter & Sweet, eds.; Roversi et al. (2000) *Acta Cryst. D* 56: 1313-1323), раскрытия которых полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

Антитела к ТИМЗ могут связываться с тем же эпитопом, что и любое из антител к ТИМЗ, имеющее

описанные в настоящем документе аминокислотные последовательности, как определено с помощью способа картирования эпитопов, такого как описанный в настоящем документе способ.

Антитела, связывающиеся с TIM3 человека и, необязательно, TIM3 яванского макака с характеристиками связывания, аналогичными описанным в настоящем документе антителам к TIM3, и определенные одним из способов, используемых в примерах, включены в настоящий документ.

Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 связываются с эпитопом, например, конформационным эпитопом, во внеклеточной части TIM3 человека, например, в Ig-подобном домене или в домене IgV внеклеточной области, т.е. аминокислотах с 22 по 130 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом, расположенным в аминокислотах 22-120 внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 286) или 1-99 зрелого TIM3 человека (SEQ ID NO: 290) (см. примеры). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с областью или эпитопом в пределах области, состоящей из аминокислот 58-64 TIM3 человека, характеризующейся SEQ ID NO: 286, что соответствует аминокислотным остаткам 37-43 зрелого TIM3 человека (CPVFECG, SEQ ID NO: 296; см. фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с областью или эпитопом в пределах области, состоящей из аминокислот 111-120 TIM3 человека, характеризующейся SEQ ID NO: 286, что соответствует аминокислотным остаткам 90-99 зрелого TIM3 человека (RIQIPGIMND, SEQ ID NO: 298; см. фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с областью или эпитопом в пределах области, состоящей из аминокислот 58-64 TIM3 человека, характеризующейся SEQ ID NO: 286 (CPVFECG, SEQ ID NO: 296), и областью, состоящей из аминокислот 111-120 человека TIM3, характеризующейся SEQ ID NO: 286 (RIQIPGIMND, SEQ ID NO: 298; см. фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с областью или эпитопом в пределах области, состоящей из аминокислот 78-89 TIM3 человека, характеризующейся SEQ ID NO: 286, которая соответствует аминокислотным остаткам 57-83 зрелого TIM3 человека (WTSRYWLNGDFR, SEQ ID NO: 297; см. фиг. 20).

Согласно одному варианту осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 13A3. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, F61, E62, C63, R111 и D120 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, F61, E62, C63, D104, R111, Q113 и D120 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, F61, E62, C63, R111 и D120 из SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, F61, E62, C63, D104, R111, Q113 и D120 из SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 3G4. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G116 и M118 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, D104, G116 и M118 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G116 и M118 из SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, D104, G116 и M118 из SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 17C3. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64 и G116 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, D104 и G116 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в зна-

чительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, и G116 из SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, D104 и G116 из SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 8B9. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, G86, D87 и R89 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87 и R89 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается по существу с тем же эпитопом, что и 8B9. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 связывается с эпитопом (или областью TIM3 человека), содержащим один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, G86, D87, R89 и D104 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20). Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, G86, D87 и R89 из SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87 и R89 из SEQ ID NO: 286 заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не связывается в значительной степени или связывается только со значительно сниженной аффинностью связывания с белком TIM3 человека, в котором один или несколько аминокислотных остатков L48, W78, S80, R81, W83, G86, D87, R89 и D104 из SEQ ID NO: 286 (фиг. 20) заменены на другую аминокислоту, например, при неконсервативной аминокислотной замене.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 конкурируют за связывание с TIM3 человека (или ингибируют связывание) с антителами к TIM3, содержащими описанные в настоящем документе CDR или переменные области, например, такие как у антител 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 и любого из TIM3.2 до TIM3.18. Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 ингибируют связывание антител 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18 с TIM3 человека по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или на 100%. Согласно некоторым вариантам осуществления 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любое из TIM3.2-TIM3.18 ингибируют связывание антител к TIM3 с TIM3 человека по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или на 100%. Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 ингибируют связывание 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18 с TIM3 человека по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или на 100%, и 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любое из TIM3.2-TIM3.18 ингибируют связывание антител к TIM3 с TIM3 человека по меньшей мере на 50, 60, 70, 80, 90 или на 100% (например, конкурируют в обоих направлениях).

VII. Сконструированные и модифицированные антитела.

Также предусмотрены сконструированные и модифицированные антитела, которые могут быть получены с использованием антитела, содержащего одну или несколько раскрытых в настоящем документе последовательностей VH и/или VL, в качестве исходного материала для конструирования модифицированного антитела, причем модифицированное антитело может характеризоваться измененными свойствами по отношению к исходному антителу. Антитело может быть сконструировано путем модификации одного или нескольких остатков в одной или обеих переменных областях (т.е. VH и/или VL), например, в одной или нескольких областях CDR и/или в одной или нескольких каркасных областях. Дополнительно или альтернативно, антитело может быть сконструировано путем модификации остатков в константной области(ях), например, для изменения эффекторной функции(й) антитела.

Одним из типов конструирования переменной области, которая может быть выполнена, является прививка CDR. Антитела взаимодействуют с антигенами-мишенями преимущественно через аминокислотные остатки, которые расположены в шести определяющих комплементарность областях (CDR) тяжелой и легкой цепей. По этой причине аминокислотные последовательности в пределах CDR более разнообразны между отдельными антителами, чем последовательности вне CDR. Поскольку последовательности CDR ответственны за большинство взаимодействий антитела с антигеном, возможно экспрессировать рекомбинантные антитела, которые имитируют свойства специфических встречающихся в природе антител путем конструирования векторов экспрессии, которые включают в себя последовательности

CDR из специфического встречающегося в природе антитела, привитого на каркасные последовательности из другого антитела с другими свойствами (см., например, Riechmann, L. et al. (1998) *Nature* 332: 323-327; Jones, P. et al. (1986) *Nature* 321: 522-525; Queen, C. et al. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 86: 10029-10033; патент США № 5225539, выданный Winter, и патенты США № 5530101; 5585089; 5693772 и 6180370, выданные Queen et al.).

Соответственно, другой описанный в настоящем документе вариант осуществления относится к выделенному моноклональному антителу или его антигенсвязывающей части, содержащей вариабельную область тяжелой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-45, SEQ ID NO: 46-52, 122-125 и SEQ ID NO: 53-59, 126-129, соответственно, и вариабельную область легкой цепи, содержащую последовательности CDR1, CDR2 и CDR3, содержащие аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 64-65, SEQ ID NO: 66-67 и SEQ ID NO: 68-71, соответственно. Таким образом, такие антитела содержат последовательности CDR VH и VL моноклональных антител 13A3, 3G4, 17C8, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18, но могут содержать различные каркасные последовательности из этих антител.

Такие каркасные последовательности могут быть получены из общедоступных баз данных ДНК или опубликованных ссылок, которые включают в себя последовательности генов антител зародышевой линии. Например, последовательности ДНК зародышевой линии для генов вариабельной области тяжелой и легкой цепи человека можно найти в базе данных последовательностей зародышевой линии человека "VBase" (доступной в Интернете по адресу www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase), а также в 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; Tomlinson, I. M., et al. (1992) "The Repertoire of Human Germline V_H Sequences Reveals about Fifty Groups of V_H Segments with Different Hypervariable Loops" /. *Mol. Biol.* 227:776-798 и Cox, J. P. L. et al. (1994) "A Directory of Human Germ-line V_H Segments Reveals a Strong Bias in their Usage" *Eur. J. Immunol.* 24:827-836; содержание каждой из которых прямо включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно некоторым вариантам осуществления каркасные последовательности для применения в описанных в настоящем документе антителах к TIM3, представляют собой такие, которые структурно аналогичны каркасным последовательностям, используемым в описанных в настоящем документе антителах к TIM3. Последовательности CDR1, 2 и 3 VH и последовательности CDR1, 2 и 3 VL могут быть привиты на каркасные области, которые характеризуются идентичной последовательностью, которая обнаружена в гене иммуноглобулина зародышевой линии, из которого происходит каркасная последовательность, или последовательности CDR могут быть привиты на каркасные области, которые содержат одну или несколько мутаций по сравнению с последовательностями зародышевой линии. Например, было обнаружено, что в некоторых случаях полезно подвергнуть мутации остатки в каркасных областях для поддержания или усиления антигенсвязывающей способности антитела (см., например, патенты США № 5530101; 5585989; 5693662 и 6180370, выданные Queen et al.).

Описанные в настоящем документе сконструированные антитела к TIM3 включают в себя антитела, в которых были сделаны модификации каркасных остатков в пределах VH и/или VL, например, для улучшения свойств антитела, например, мутации в аминокислоте 107 в 9F6. Как правило, такие каркасные модификации вносят для снижения иммуногенности антитела. Например, один из подходов заключается в том, чтобы "мутировать к первоначальному виду" один или несколько каркасных остатков в соответствующую последовательность зародышевой линии. Более конкретно, антитело, которое подверглось соматической мутации, может содержать каркасные остатки, которые отличаются от последовательности зародышевой линии, из которой получено антитело. Такие остатки могут быть идентифицированы путем сравнения каркасных последовательностей антитела с последовательностями зародышевой линии, из которых получено антитело. Чтобы вернуть последовательности каркасной области в их конфигурацию зародышевой линии, соматические мутации могут быть "мутированы к первоначальному виду" последовательности зародышевой линии, например, с помощью сайт-направленного мутагенеза или ПЦР-опосредованного мутагенеза. Такие "мутированные к первоначальному виду" антитела также должны быть охвачены. Другой тип каркасной модификации включает в себя мутацию одного или нескольких остатков внутри каркасной области или даже внутри одной или нескольких областей CDR для удаления T-клеточных эпитопов, чтобы тем самым снизить потенциальную иммуногенность антитела. Этот подход также упоминается как "деиммунизация" и более подробно описан в публикации патента США № 20030153043, выданной Carr et al.

Другой тип модификации вариабельной области осуществляется для мутации аминокислотных остатков в областях CDR1, CDR2 и/или CDR3 VH и/или VL, чтобы тем самым улучшить одно или несколько свойств связывания (например, аффинности) представляющего интерес антитела. Сайт-направленный мутагенез или ПЦР-опосредованный мутагенез может быть выполнен для введения мутации(й), и влияние на связывание антител или другое представляющее интерес функциональное свойство может быть оценено в анализах *in vitro* или *in vivo*, как описано в настоящем документе и представлено в примерах. Согласно некоторым вариантам осуществления вводятся консервативные модификации (как

обсуждалось выше). Мутации могут представлять собой аминокислотные замены, добавления или делеции. Кроме того, изменяются, как правило, не более одного, двух, трех, четырех или пяти остатков в области CDR.

Соответственно, также предусмотрены выделенные моноклональные антитела к TIM3 или их антигенсвязывающие части, содержащие варибельную область тяжелой цепи, содержащую:

(a) область CDR1 VH, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-45, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами, делециями или добавлениями по сравнению с SEQ ID NO: 41-45;

(b) область CDR2 VH, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 46-52 и 122-125, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами, делециями или добавлениями по сравнению с SEQ ID NO: 46-52 и 122-125;

(c) область CDR3 VH, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53-59 и 126-129, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами, делециями или добавлениями по сравнению с SEQ ID NO: 53-59 и 126-129;

(d) область CDR1 VL, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 64-65, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами, делециями или добавлениями по сравнению с SEQ ID NO: 64-65;

(e) область CDR2 VL, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 66-67, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами, делециями или добавлениями по сравнению с SEQ ID NO: 66-67; а также

(f) область CDR3 VL, содержащую аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 68-71, или аминокислотную последовательность, характеризующуюся одной, двумя, тремя, четырьмя или пятью аминокислотными заменами, делециями или добавлениями по сравнению с SEQ ID NO: 68-71.

Остатки метионина в CDR антител могут быть окислены, что приводит к потенциальной химической деградации и последующему снижению активности антитела. Соответственно, также предусмотрены антитела к TIM3, которые содержат один или несколько остатков метионина в CDR тяжелой и/или легкой цепи, замененных аминокислотными остатками, которые не подвергаются окислительной деградации. Согласно одному варианту осуществления остатки метионина в CDR антител 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или любого из TIM3.2-TIM3.18 заменены аминокислотными остатками, которые не подвергаются окислительной деградации.

Подобным образом сайты дезамидирования могут быть удалены из антител к TIM3, особенно в CDR.

Описанные в настоящем документе варибельные области к TIM3 могут быть связаны (например, ковалентно связаны или слиты) с Fc, например, Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, который может быть любого аллотипа или изоаллотипа, например, для IgG1: G1m, G1m1(a), G1m2(x), G1m3(f), G1m17(z); для IgG2: G2m, G2m23(n); для IgG3: G3m, G3m21(g1), G3m28(g5), G3m11(b0), G3m5(b1), G3m13(b3), G3m14(b4), G3m10(b5), G3m15(s), G3m16(t), G3m6(c3), G3m24(c5), G3m26(u), G3m27(v) и для K: Km, Km1, Km2, Km3 (см., например, Jefferies et al. (2009) mAbs 1:1).

Согласно некоторым вариантам осуществления описанные в настоящем документе варибельные области к TIM3 связаны с Fc без эффекторных функций или по большей части без эффекторных функций, например, IgG1.

Как правило, описанные в настоящем документе варибельные области могут быть связаны с Fc, содержащим одну или несколько модификаций, как правило, для изменения одного или нескольких функциональных свойств антитела, таких как период полужизни в сыворотке, фиксация комплемента, связывание с рецептором Fc и/или антиген-зависимая клеточная цитотоксичность. Кроме того, описанное в настоящем документе антитело может быть химически модифицировано (например, один или несколько химических фрагментов могут быть присоединены к антителу) или может быть модифицировано, чтобы изменить его гликозилирование, чтобы изменить одно или несколько функциональных свойств антитела. Каждый из этих вариантов осуществления описан более подробно ниже. Нумерация остатков в области Fc соответствует индексу EU по Kabat.

Область Fc охватывает домены, полученные из константной области иммуноглобулина, включая в себя фрагмент, аналог, вариант, мутант или производное константной области. Подходящие иммуноглобулины включают в себя IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 и другие классы, такие как IgA, IgD, IgE и IgM. Константная область иммуноглобулина определяется как встречающийся в природе или синтетический полипептид, гомологичный C-концевой области иммуноглобулина и может включать в себя домен CH1, шарнир, домен CH2, домен CH3 или домен CH4, отдельно или в комбинации.

Молекулы Ig взаимодействуют с несколькими классами клеточных рецепторов. Например, молекулы IgG взаимодействуют с тремя классами рецепторов Fc γ (Fc γ R), специфическими для класса антител IgG, а именно Fc γ RI, Fc γ RII и Fc γ RIII. Сообщалось, что важные последовательности для связывания IgG с рецепторами Fc γ R находятся в доменах CH2 и CH3. Период полужизни антитела в сыворотке зависит от способности этого антитела связываться с Fc-рецептором (FcR).

Согласно некоторым вариантам осуществления область Fc представляет собой вариантную область Fc, например, последовательность Fc, которая была модифицирована (например, путем замены, делеции и/или вставки аминокислоты) относительно исходной последовательности Fc (например, немодифицированного полипептида Fc, который впоследствии модифицируют для создания варианта), чтобы обеспечить желательные структурные особенности и/или биологическую активность.

Как правило, варианты константной области или ее частей, например, домены CH1, CL, шарнир, CH2 или CH3 могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более мутаций и/или самое большее 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 мутацию, или 1-10 или 1-5 мутаций, или содержат аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична таковой в соответствующей области или домене дикого типа (домен CH1, CL, шарнир, CH2 или CH3, соответственно) при условии, что константная область тяжелой цепи, содержащая конкретный вариант, сохраняет необходимую биологическую активность.

Например, можно вносить модификации в область Fc, чтобы получить вариант Fc, который (a) обладает повышенной или пониженной антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичностью (ADCC), (b) повышенной или пониженной комплемент-опосредованной цитотоксичностью (CDC), (c) повышенной или пониженной аффинностью к C1q и/или (d) повышенной или пониженной аффинностью к Fc-рецептору по сравнению с исходным Fc. Такие варианты области Fc будут, как правило, содержать по меньшей мере одну аминокислотную модификацию в области Fc. Считается, что объединение модификаций аминокислот является особенно желательным. Например, вариантная область Fc может включать в себя две, три, четыре, пять и т.д. замены, например, определенных положений области Fc, идентифицированных в настоящем документе.

Вариантная область Fc может также содержать изменение последовательности, при котором аминокислоты, участвующие в образовании дисульфидной связи, удаляются или замещаются другими аминокислотами. Такое удаление может избежать реакции с другими цистеинсодержащими белками, присутствующими в клетке-хозяине, которые используются для производства описанных в настоящем документе антител к TIM3. Даже когда остатки цистеина удалены, одноцепочечные домены Fc все еще могут образовывать димерный домен Fc, который удерживается вместе нековалентно. Согласно другим вариантам осуществления область Fc может быть модифицирована, чтобы сделать ее более совместимой с выбранной клеткой-хозяином. Например, можно удалить последовательность PA рядом с N-концом типичной нативной области Fc, которая может распознаваться пищеварительным ферментом в *E. coli*, таким как пролин-иминопептидаза. Согласно другим вариантам осуществления один или несколько сайтов гликозилирования в домене Fc могут быть удалены. Остатки, которые, как правило, гликозилированы (например, аспарагин), могут вызывать цитолитический ответ. Такие остатки могут быть удалены или заменены негликозилированными остатками (например, аланином). Согласно другим вариантам осуществления сайты, участвующие во взаимодействии с комплементом, такие как сайт связывания C1q, могут быть удалены из области Fc. Например, можно удалить или заменить последовательность EKK IgG1 человека. Согласно определенным вариантам осуществления могут быть удалены сайты, которые влияют на связывание с Fc-рецепторами, предпочтительно сайты, отличные от сайтов связывания рецептора реутилизации. Согласно другим вариантам осуществления область Fc может быть модифицирована для удаления сайта ADCC. Сайты ADCC известны в настоящей области техники; смотрите, например, *Molec. Immunol.* 29 (5): 633-9 (1992) в отношении сайтов ADCC в IgG1. Конкретные примеры вариантных доменов Fc раскрыты, например, в публикациях международных заявок WO 97/34631 и WO 96/32478.

Согласно одному варианту осуществления шарнирная область Fc модифицируется таким образом, что количество остатков цистеина в шарнирной области изменяется, например, увеличивается или уменьшается. Этот подход описан дополнительно в патенте США № 5677425, выданном Bodmer et al. Количество остатков цистеина в шарнирной области Fc изменяется, например, для облегчения сборки легкой и тяжелой цепей или для увеличения или уменьшения стабильности антитела. Согласно одному варианту осуществления шарнирную область Fc антитела подвергают мутации для уменьшения биологического периода полужизни антитела. Более конкретно, одну или несколько аминокислотных мутаций вводят в область граничной поверхности домена CH2-CH3 фрагмента шарнира Fc, так что антитело характеризуется нарушенным связыванием белка A стафилококка (SpA) относительно связывания SpA нативным доменом шарнира Fc. Этот подход более подробно описан в патенте США № 6166545, выданном Ward et al.

Согласно еще другим вариантам осуществления область Fc изменяется путем замещения по меньшей мере одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком для изменения эффекторной функции(й) антитела. Например, одна или несколько аминокислот, выбранных из аминокислотных

остатков 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320, 322, 330 и/или 331, могут быть замещены другим аминокислотным остатком, так что антитело имеет измененную аффинность к эффекторному лиганду, но сохраняет антигенсвязывающую способность исходного антитела. Эффекторный лиганд, к которому изменяется аффинность, может представлять собой, например, Fc-рецептор или компонент C1 комплемента. Этот подход более подробно описан в патентах США № 5624821 и 5648260, выданных Winter et al.

В другом примере одна или несколько аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков 329, 331 и 322, могут быть заменены другим аминокислотным остатком, так что антитело характеризуется измененным связыванием C1q и/или уменьшенной или отмененной комплемент-зависимой цитотоксичностью (CDC). Этот подход более подробно описан в патентах США № 6194551, выданных Idusogie et al.

В другом примере один или несколько аминокислотных остатков в аминокислотных положениях 231 и 239 изменены, чтобы тем самым изменить способность антитела фиксировать комплемент. Этот подход описан дополнительно в публикации согласно РСТ WO 94/29351, выданной Bodmer et al.

В еще одном примере область Fc может быть модифицирована для уменьшения антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и/или для уменьшения аффинности к рецептору Fcγ путем модификации одной или нескольких аминокислот в следующих положениях: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 или 439. Иллюстративные замены включают в себя 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D и 332E. Иллюстративные варианты включают в себя 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T и 267E/268F/324T. Другие модификации для усиления взаимодействия FcγR и комплемента включают в себя, без ограничения, замены 298A, 333A, 334A, 326A, 2471, 339D, 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 3051 и 396L. Эти и другие модификации рассмотрены в Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20: 685-691.

Модификации Fc, которые увеличивают связывание с рецептором Fcγ, включают в себя модификации аминокислот в любом одном или нескольких аминокислотных положениях 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 279, 280, 283, 285, 298, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 312, 315, 324, 327, 329, 330, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 379, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 или 439 области Fc, причем нумерация остатков в области Fc является такой же, как согласно индексу EU, как в Rabat (WO 00/42072).

Другие модификации Fc, которые могут быть внесены в Fc, представляют собой модификации, которые уменьшают или устраняют связывание с FcγR и/или комплементными белками, тем самым уменьшая или устраняя опосредованные Fc эффекторные функции, такие как ADCC, ADCP и CDC. Иллюстративные модификации включают в себя, без ограничения, замены, вставки и делеции в положениях 234, 235, 236, 237, 267, 269, 325, 328, 330 и/или 331 (например, 330 и 331), причем нумерация соответствует индексу EU. Иллюстративные замены включают в себя, без ограничения, 234A, 235E, 236R, 237A, 267R, 269R, 325L, 328R, 330S и 331S (например, 330S и 331S), причем нумерация соответствует индексу EU. Вариант Fc может содержать 236R/328R. Другие модификации для уменьшения взаимодействия FcγR и комплемента включают в себя замены 297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P и 234V, а также удаление гликозилирования в положении 297 мутационными или ферментативными средствами или путем производства в организмах, таких как бактерии, которые не гликозилируют белки. Эти и другие модификации рассмотрены в Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20: 685-691.

Необязательно, область Fc может содержать не встречающийся в природе аминокислотный остаток в дополнительных и/или альтернативных положениях, известных специалисту в настоящей области техники (см., например, патенты США № 5624821; 6277375; 6737056; 6194551; 7317091; 8101720; патентные публикации PCX WO 00/42072; WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 и WO 06/0201 14).

Варианты Fc, которые усиливают аффинность к ингибирующему рецептору FcγRIIb, также могут быть использованы. Такие варианты могут обеспечивать слитый белок Fc с иммуномодулирующими активностями, связанными с FcγRIIb клеток, включая в себя, например, В-клетки и моноциты. Согласно одному варианту осуществления варианты Fc обеспечивают селективно улучшенную аффинность к FcγRIIb относительно одного или нескольких активирующих рецепторов. Модификации для изменения связывания с FcγRIIb включают в себя одну или несколько модификаций в положении, выбранном из группы, состоящей из 234, 235, 236, 237, 239, 266, 267, 268, 325, 326, 327, 328, 330, 331 и 332 по индексу EU. Иллюстративные замены для усиления аффинности FcγRIIb включают в себя, без ограничения, 234A, 234D, 234E, 234F, 234W, 235D, 235E, 235F, 235R, 235Y, 236D, 236N, 237A, 237D, 237N, 239D, 239E, 266M, 267D, 267M, 267M, 267E, 268D, 268E, 327D, 327E, 328F, 328 W, 328Y, 330S, 331S и 332E. Иллюстративные замены включают в себя 235Y, 236D, 239D, 266M, 267E, 268D, 268E, 328F, 328W и

328Y. Другие варианты Fc для усиления связывания с FcγRIIb включают в себя 235Y/267E, 236D/267E, 239D/268D, 239D/267E, 267E/268D, 267E/268E и 267E/328F.

Аффинность и свойства связывания области Fc для его лиганда могут быть определены различными способами анализа *in vitro* (биохимическими или иммунологическими анализами), известными в настоящей области техники, включая в себя, без ограничения, равновесные способы (например, ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA) или радиоиммуноанализ (RIA)) или кинетику (например, анализ BIACORE) и другие способы, такие как анализы непрямого связывания, анализы конкурентного ингибирования, резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET), гель-электрофорез и хроматография (например, гель-фильтрация). Эти и другие способы могут использовать метку на одном или нескольких исследуемых компонентах и/или использовать различные способы обнаружения, включая в себя, без ограничения, хромогенные, флуоресцентные, люминесцентные или изотопные метки. Подробное описание аффинности и кинетики связывания можно найти в Paul, W.E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999), в котором основное внимание уделяется взаимодействиям антитело-иммуноген.

Согласно определенным вариантам осуществления антитело модифицируют для увеличения его биологического периода полужизни. Возможны разные подходы. Например, это может быть сделано путем увеличения аффинности связывания области Fc для FcRn. Например, один или несколько из следующих остатков могут быть мутированы: 252, 254, 256, 433, 435, 436, как описано в патенте США № 6277375. Конкретные иллюстративные замены включают в себя одно или несколько из следующих: T252L, T254S и/или T256F. Альтернативно, чтобы увеличить биологический период полужизни, антитело может быть изменено в области CH1 или CL, чтобы оно содержало эпитоп, связывающий рецептор реутилизации, взятый из двух петель домена CH2 области Fc IgG, как описано в патентах США № 5869046 и 6121022, выданных Presta et al. Другие иллюстративные варианты, которые увеличивают связывание с FcRn и/или улучшают фармакокинетические свойства, включают в себя замены в положениях 259, 308, 428 и 434, включая в себя, например, 259I, 308F, 428L, 428M, 434S, 434I1, 434F, 434Y и 434X1. Другие варианты, которые увеличивают связывание Fc с FcRn, включают в себя: 250E, 250Q, 428L, 428F, 250Q/428L (Hintone et al. 2004, *J. Biol. Chem.* 279 (8): 6213-6216, Hintone et al. 2006 *Journal of Immunology* 176: 346-356), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 307Q, 311A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields et al., *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276 (9): 6591-6604), 252F, 252T, 252Y, 252W, 254T, 256S, 256R, 256Q, 256E, 256D, 256T, 309P, 311S, 433R, 433S, 433I, 433P, 433Q, 434H, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H, 308T/309P/311S (Dall'Acqua et al. *Journal of Immunology*, 2002, 169: 5171-5180, Dall'Acqua et al., 2006, *Journal of Biological Chemistry* 281: 23514-23524). Другие модификации для модуляции связывания FcRn описаны в Yeung et al., 2010, *J Immunol*, 182:7663-7671.

Согласно некоторым вариантам осуществления могут быть использованы гибридные изотипы IgG с конкретными биологическими характеристиками. Например, гибридный вариант IgG1/IgG3 может быть сконструирован путем замены положений IgG1 в области CH2 и/или CH3 аминокислотами из IgG3 в положениях, где два изотипа различаются. Таким образом, может быть сконструировано гибридное вариантное антитело IgG, которое включает в себя одну или несколько замен, например, 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 422I, 435R и 436F. Согласно другим описанным в настоящем документе вариантам осуществления гибридный вариант IgG1/IgG2 может быть сконструирован путем замены положений IgG2 в области CH2 и/или CH3 аминокислотами из IgG1 в положениях, где два изотипа различаются. Таким образом, может быть сконструировано гибридное вариантное антитело IgG, которое содержит одну или несколько замен, например, одну или несколько из следующих аминокислотных замен: 233E, 234L, 235L, -236G (относящаяся к вставке глицина в положении 236) и 327A.

Кроме того, сайты связывания на IgG1 человека для FcγRI, FcγRII, FcγRIII и FcRn были картированы, и были описаны варианты с улучшенным связыванием (см. Shields, R.L. et al. (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604). Было показано, что специфические мутации в положениях 256, 290, 298, 333, 334 и 339 улучшают связывание с FcγRIII. Кроме того, было показано, что следующие комбинированные мутанты улучшают связывание FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A и S298A/E333A/K334A, которые, как было показано, проявляют усиленное связывание FcγRIIIa и активность ADCC (Shields et al., 2001). Были идентифицированы другие варианты IgG1 с сильно усиленным связыванием с FcγRIIIa, включая в себя варианты с мутациями S239D/I332E и S239D/I332E/A330L, которые показали наибольшее увеличение аффинности к FcγRIIIa, снижение связывания FcγRIIb и сильную цитотоксическую активность у яванских макаков (Lazar et al., 2006). Введение тройных мутаций в антитела, такие как алемтузумаб (CD52-специфический), трастузумаб (HER2/neu-специфический), ритуксимаб (CD20-специфический) и цетуксимаб (EGFR-специфический), приводило к значительно повышенной активности ADCC *in vitro*, и вариант S239D/I332E продемонстрировал повышенную способность истощать В-клетки у обезьян (Lazar et al., 2006). Кроме того, были идентифицированы мутанты IgG1, содержащие мутации L235V, F243L, R292P, Y300L и P396L, которые демонстрировали усиленное связывание с FcγRIIIa и одновременно повышенную активность ADCC у трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий FcγRIIIa, на моделях злокачественных опухолей В-клеток и рака молочной железы (Stavenha-

gen et al., 2007; Nordstrom et al., 2011). Другие мутанты Fc, которые можно использовать, включают в себя: S298A/E333A/L334A, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L и M428L/N434S.

Согласно определенным вариантам осуществления выбирают Fc, который характеризуется сниженным связыванием с FcγR. Иллюстративный Fc, например, Fc IgG1 со сниженным связыванием с FcγR, содержит следующие три аминокислотные замены: L234A, L235E и G237A.

Согласно определенным вариантам осуществления выбирают Fc, который характеризуется сниженной фиксацией комплемента. Иллюстративный Fc, например, Fc IgG1 со сниженной фиксацией комплемента, содержит следующие две аминокислотные замены: A330S и P331S.

Согласно определенным вариантам осуществления выбирают Fc, который по существу не имеет эффекторной функции, т.е. он характеризуется сниженным связыванием с FcγR и сниженной фиксацией комплемента. Иллюстративный Fc, например, Fc IgG1, который не содержит эффекторов, содержит следующие пять мутаций: L234A, L235E, G237A, A330S и P331S.

При использовании константного домена IgG4 он может включать в себя замену S228P, которая имитирует последовательность шарнира в IgG1 и тем самым стабилизирует молекулы IgG4.

Согласно еще одному варианту осуществления гликозилирование антитела является модифицированным. Например, может быть получено агликозилированное антитело (т.е. антитело без гликозилирования). Гликозилирование может быть изменено, например, для увеличения аффинности антитела к антигену. Такие модификации углеводов могут быть выполнены, например, путем изменения одного или нескольких сайтов гликозилирования в последовательности антитела. Например, могут быть сделаны одна или несколько аминокислотных замен, которые приводят к удалению одного или нескольких сайтов гликозилирования каркаса варибельной области, чтобы тем самым устранить гликозилирование в этом сайте. Такое агликозилирование может увеличить аффинность антитела к антигену. Такой подход более подробно описан в патентах США № 5714350 и 6350861, выданный Co et al.

Гликозилирование константной области на N297 можно предотвратить путем мутации остатка N297 в другой остаток, например, N297A, и/или путем мутации соседней аминокислоты, например, 298, чтобы тем самым уменьшить гликозилирование на N297.

Дополнительно или альтернативно, может быть получено антитело, которое характеризуется измененным типом гликозилирования, такое как гипофукозилированное антитело, содержащее сниженные количества фукозильных остатков, или антитело, содержащее повышенное количество структур GlcNac в точках ветвления. Было показано, что такие измененные паттерны гликозилирования увеличивают способность антител к ADCC. Такие модификации углеводов могут быть выполнены, например, путем экспрессии антитела в клетке-хозяине с измененным механизмом гликозилирования. Клетки с измененным механизмом гликозилирования были описаны в настоящей области техники и могут быть использованы в качестве клеток-хозяев, в которых экспрессируются описанные в настоящем документе рекомбинантные антитела к TIM3, чтобы тем самым производить антитело с измененным гликозилированием. Например, в Европейском патенте EP 1176195, выданном Hanai et al., описана клеточная линия с функционально нарушенным геном FUT8, который кодирует фукозилтрансферазу, так что антитела, экспрессируемые в такой клеточной линии, обнаруживают гипофукозилирование. В публикации согласно PCT WO 03/035835, выданной Presta, описан вариант клеточной линии CHO, клетки Led 3, со сниженной способностью присоединять фукозу к связанным с Asn(297) углеводам, что также приводит к гипофукозилированию антител, экспрессируемых в этой клетке-хозяине (см. также Shields, R.L. et al. (2002) J. Biol. Chem. 277: 26733-26740). В публикации PCT WO 99/54342, выданной Umana et al., описаны клеточные линии, сконструированные для экспрессии гликопротеин-модифицирующих гликозилтрансфераз (например, бета(1,4)-N-ацетилглюкозаминилтрансферазы III (GnTIII)), так что антитела, экспрессируемые в сконструированных клеточных линиях, проявляют повышенное количество структур GlcNac в точках ветвления, что приводит к повышенной ADCC-активности антител (см. также Umana et al. (1999) Nat. Biotech. 17: 176-180).

Другой модификацией описанных в настоящем документе антител к TIM3 является пегилирование. Антитело может быть пегилировано, например, для увеличения биологического (например, сывороточного) периода полужизни антитела. Чтобы пегилировать антитело, антитело или его фрагмент, как правило, подвергают взаимодействию с полиэтиленгликолем (ПЭГ), таким как реакционноспособное эфирное или альдегидное производное ПЭГ, в условиях, в которых одна или несколько групп ПЭГ присоединяются к антителу или фрагменту антитела. Согласно некоторым вариантам осуществления пегилирование проводят посредством реакции ацилирования или реакции алкилирования с реакционноспособной молекулой ПЭГ (или аналогичным реакционноспособным водорастворимым полимером). Используемый в настоящем документе термин "полиэтиленгликоль" предназначен для охвата любой из форм ПЭГ, которые были использованы для дериватизации других белков, таких как моно (CI-CIO) алкокси- или арилокси-полиэтиленгликоль или полиэтиленгликоль-малеимид. Согласно определенным вариантам осуществления подлежащее пегилированию антитело представляет собой агликозилированное антитело. Способы пегилирования белков известны в настоящей области техники и могут быть применены к описан-

ным в настоящем документе антителам к TIM3. Смотрите, например, EP 0154316, выданный Nishimura et al., и EP 0401384, выданный Ishikawa et al.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 содержит константную область тяжелой цепи и константную область легкой цепи, причем константная область тяжелой цепи выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 263-266.

VIII. Физические свойства антител.

Антитела к TIM3, например, описанные в настоящем документе, имеют некоторые или все физические характеристики описанных в настоящем документе специфических антител к TIM3, такие как описанные в примерах характеристики.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 могут содержать один или несколько сайтов гликозилирования в вариабельной области легкой или тяжелой цепи. Такие сайты гликозилирования могут приводить к повышенной иммуногенности антитела или изменению рК антитела вследствие измененного связывания антигена (Marshall et al., (1972) *Appl Rev Biochem* 41:673-702; Gala and Morrison (2004) *J. Immunol* 172:5489-94; Wallick et al., (1988) *J Exp Med* 168: 1099-109; Spiro (2002) *Glycobiology* 12:43R-56R; Parekh et al., (1985) *Nature* 316:452-7; Mimura et al., (2000) *Mol Immunol* 31:697-106). Известно, что гликозилирование происходит в мотивах, содержащих последовательность N-X-S/T. В некоторых случаях антитело к TIM3 не содержит гликозилирования вариабельной области. Это может быть достигнуто либо путем отбора антител, которые не содержат мотив гликозилирования в вариабельной области, либо путем мутирования остатков в области гликозилирования.

Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 не содержат сайтов изомерии аспарагина. Деамидирование аспарагина может происходить в последовательностях N-G или D-G и приводить к образованию остатка изоаспарагиновой кислоты, который вносит излом в полипептидную цепь и снижает ее стабильность (эффект изоаспарагиновой кислоты).

Каждое антитело будет иметь уникальную изоэлектрическую точку (pI), которая, как правило, находится в диапазоне pH от 6 до 9,5. Значение pI для антитела IgG1, как правило, находится в диапазоне pH 7-9,5, а число pI для антитела IgG4, как правило, находится в диапазоне pH 6-8. Существует предположение, что антитела с pI вне нормального диапазона могут характеризоваться некоторым разворачиванием и нестабильностью в условиях *in vivo*. Таким образом, антитело к TIM3 может содержать значение pI, которое находится в нормальном диапазоне. Это может быть достигнуто либо путем отбора антител с pI в нормальном диапазоне, либо путем мутации заряженных поверхностных остатков.

Каждое антитело будет иметь характерную температуру плавления, причем более высокая температура плавления указывает на большую общую стабильность *in vivo* (Krishnamurthy R and Manning M C (2002) *Curr Pharm Biotechnol* 3:361-71). Как правило, T_mi (температура начального разворачивания) может быть выше 60°C, выше 65°C или выше 70°C. Температуру плавления антитела можно измерить с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (Chen et al., (2003) *Pharm Res* 20: 1952-60; Ghirlando et al., (1999) *Immunol Lett* 68:47-52) или кругового дихроизма (Murray et al., (2002) *J. Chromatogr Sci* 40:343-9).

Согласно одному варианту осуществления выбирают антитела, которые не деградируют быстро. Деградация антитела может быть измерена с использованием капиллярного электрофореза (CE) и MALDI-MS (Alexander A J and Hughes D E (1995) *Anal Chem* 67:3626-32).

Согласно другому варианту осуществления выбирают антитела, которые характеризуются минимальными эффектами агрегации, которые могут приводить к запуску нежелательного иммунного ответа и/или измененным или неблагоприятным фармакокинетическим свойствам. Как правило, антитела являются приемлемыми с агрегацией 25% или менее, 20% или менее, 15% или менее, 10% или менее или 5% или менее. Агрегация может быть измерена несколькими способами, включающими в себя эксклюзионную колоночную (SEC), высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC) и рассеяние света.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 характеризуется комбинацией структур и свойств, описанных в разделах (I), (II), (III), (IV), (V), (VI), (VII), (VIII) и (IX) выше. Согласно одному варианту осуществления антитело к TIM3 перекрестно конкурирует с антителами I3A3, 17C3, 8B9, 8C4, 3G4, 17C8 и 9F6, как описано в разделах I и/или VI, полученными из последовательности зародышевой линии, как описано в разделе III, содержит консервативные мутации, как описано в разделе V, и/или имеет гомологию с антителами к TIM3 в разделах I и II, как описано в разделе IV, в комбинации с одним или несколькими функциональными свойствами, описанными где-либо в настоящем документе.

IX. Способы конструирования антител.

Как обсуждалось выше, антитела к TIM3, имеющие последовательности VH и VL, раскрытые в данном документе, можно использовать для создания новых антител к TIM3 путем модификации последовательностей VH и/или VL или константной области (областей), прикрепленной к ним. Таким образом, в описанном в настоящем документе другом аспекте структурные признаки описанного в настоящем документе антитела к TIM3 используются для создания структурно родственных антител к TIM3, которые сохраняют по меньшей мере одно функциональное свойство описанных в настоящем документе антител к TIM3, например, связывание с TIM3 человека и TIM3 яванского макака. Например, одна или несколько

областей CDR 17C3, 8B9, 8C4, 3G4, 17C8, 9F6, 13A3 или любого из TIM3.2-TIM3.18 могут быть рекомбинантно объединены с известными каркасными областями и/или другими CDR для создания дополнительных, рекомбинантно-сконструированных антител к TIM3, описанных в настоящем документе, как обсуждалось выше. Другие типы модификаций включают в себя те, которые описаны в предшествующем разделе. Исходным материалом для способа конструирования является одна или несколько последовательностей VH и/или VL, представленных в настоящем документе, или одна или несколько областей CDR. Чтобы создать сконструированное антитело, нет необходимости фактически получать (т.е. экспрессировать в виде белка) антитело, имеющее одну или несколько последовательностей VH и/или VL, представленных в настоящем документе, или одну или несколько его областей CDR. Скорее, информация, содержащаяся в последовательности(ях), используется в качестве исходного материала для создания последовательности(ей) "второго поколения", полученной из исходной(ых) последовательности(ей), и затем получают последовательность(и) "второго поколения" и экспрессируют в виде белка.

Соответственно, в настоящем документе предусмотрены способы получения антитела к TIM3, предусматривающие:

(a) предоставление: (i) последовательности вариабельной области тяжелой цепи антитела, содержащей последовательность CDR1, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-45, последовательности CDR2, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 46-52 и 122-125, и/или последовательности CDR3, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 53-59 и 126-129; и (ii) последовательности вариабельной области легкой цепи антитела, содержащей последовательность CDR1, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 64 и 65, последовательность CDR2, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 66 и 67, и/или последовательность CDR3, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 68-71;

(b) изменение по меньшей мере одного аминокислотного остатка в последовательности вариабельной области тяжелой цепи антитела и/или последовательности вариабельной области легкой цепи антитела для создания по меньшей мере одной измененной последовательности антитела, а также

(c) экспрессию измененной последовательности антитела в виде белка.

Стандартные способы молекулярной биологии могут быть использованы для получения и экспрессии измененной последовательности антитела. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело, кодируемое измененной последовательностью(ями) антитела, представляет собой антитело, которое сохраняет одно, некоторые или все функциональные свойства описанных в настоящем документе антител к TIM3, которые включают в себя:

(1) связывание с растворимым TIM3 человека, например, с K_D 10 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(2) связывание с растворимым TIM3 яванского макака, например, с K_D 100 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 100 нМ), например, как измерено посредством Biacore, например, как описано в примерах;

(3) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с EC_{50} 1 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 1 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(4) связывание с мембраносвязанным TIM3 человека, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(5) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с EC_{50} 20 мкг/мл или менее (например, от 0,01 мкг/мл до 20 мкг/мл), например, как измерено посредством проточной цитометрии (например, как описано в примерах);

(6) связывание с мембраносвязанным TIM3 яванского макака, например, с K_D 1 нМ или менее (например, от 0,01 нМ до 10 нМ), например, как измерено посредством анализа Скэтчарда, например, как описано в примерах;

(7) индуцирование или усиление активации Т-клеток (например, путем блокирования или уменьшения ингибирующего действия TIM3), о чем свидетельствует (i) увеличение производства IFN- γ в экспрессирующих TIM3 Т-клетках (например, Th1-клетках или TIL) и/или (ii) усиление пролиферации экспрессирующих TIM-3 Т-клеток (например, Th1-клеток или TIL), например, как описано в примерах;

(8) стимуляция пролиферации Т-клеток в анализе реакции смешанной культуры лимфоцитов (MLR), например, как описано в примерах;

(9) ингибирование связывания фосфатидилсерина с TIM3, например, как измерено посредством анализа блокирования "в тандеме" PS-hTIM3, например, как описано в примерах;

(10) отсутствие интернализации или подавления TIM3 клеточной поверхности при связывании с TIM3 на клетках;

(11) связывание с одной из следующих областей внеклеточного домена TIM3 человека (SEQ ID NO: 290): (a) CPVFECG (SEQ ID NO: 296); (b) RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 298); (c) CPVFECG и RIQIPGIMND (SEQ ID NO: 296 и 298, соответственно) и (d) WTSRYWLNDFR (SEQ ID NO: 297), например, как описано в примерах;

(12) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором одна или несколько аминокислот L48, C58, P59, V60, F61, E62, C63, G64, W78, S80, R81, W83, L84, G86, D87, R89, D104, R111, Q113, G116, M118 и D120 (как пронумеровано в SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа, например, как описано в примерах;

(13) конкурирование в одном или обоих направлениях за связывание с TIM3 человека с антителом, содержащим домены VH и VL любого из 13A3, 3G4, 17C3, 17C8, 9F6, 8B9, 8C4 или TIM3.7, TIM3.8, TIM3.10, TIM3.11, TIM3.12, TIM3.13, TIM3.14, TIM3.15, TIM3.16, TIM3.18, например, как описано в примерах;

(14) связывание с областями TIM3 человека ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367) и ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368), как определено посредством HDX-MS, например, как описано в примерах;

(15) наличие вариабельных областей тяжелой цепи и/или легкой цепи, которые взаимодействуют по меньшей мере с 5, 10, 15, 20 или всеми следующими аминокислотами TIM3 человека: P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 и, необязательно, T70 и/или I112, как определено рентгеновской кристаллографией (например, описанной в примерах; нумерация согласно SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)); и/или

(16) (a) наличие сниженного связывания с TIM3 человека, в котором 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 аминокислот C58, P59, F61, E62, C63, R111, D120 и необязательно, D104 и Q113 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20)) заменены другой аминокислотой относительно связывания с человеческим TIM3 дикого типа; (b) связывание с ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 373), как определено посредством HDX-MS, как описано в примерах; и/или (c) конкурирование или перекрестное блокирование связывания с TIM3 человека 13A3 или TIM3.18.IgG1.3, например, как описано в примерах.

Измененное антитело может проявлять одно или несколько, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более или все функциональные свойства, представленные как (1) - (16) выше. Функциональные свойства измененных антител могут быть оценены с использованием стандартных анализов, доступных в настоящей области техники и/или описанных в настоящем документе, таких как те, которые представлены в примерах (например, ELISA, FACS).

Согласно определенным вариантам осуществления способов конструирования описанных в настоящем документе антител к TIM3 мутации могут быть введены случайным образом или избирательно вдоль всей или части кодирующей последовательности антитела к TIM3, и полученные в результате модифицированные антитела к TIM3 могут быть подвергнуты скринингу на наличие активности связывания и/или других функциональных свойств, как описано в настоящем документе. Мутационные способы были описаны в настоящей области техники. Например, в публикации согласно PCT WO 02/092780, выданной Short, описаны способы создания и скрининга мутаций антител с использованием насыщающего мутагенеза, искусственной сборки с лигированием или их комбинации. Альтернативно, в публикации согласно PCT WO 03/074679, выданной Lazar et al., описаны способы применения способов компьютерного скрининга для оптимизации физико-химических свойств антител.

X. Молекулы нуклеиновых кислот.

Другой описанный в настоящем документе аспект относится к молекулам нуклеиновой кислоты, которые кодируют описанные в настоящем документе антитела к TIM3. Нуклеиновые кислоты могут присутствовать в целых клетках, в клеточном лизате или в частично очищенной или по существу чистой форме. Нуклеиновая кислота является "выделенной" или "по существу чистой", когда она очищена от других клеточных компонентов или других загрязняющих веществ, например, других клеточных нуклеиновых кислот (например, другой хромосомной ДНК, например, хромосомной ДНК, которая связана с выделенной ДНК в природе) или белков стандартными способами, включая в себя обработку щелочью/SDS, бэндинг CsCl, колоночную хроматографию, рестрикционные ферменты, электрофорез в агарозном геле и другие, хорошо известные в настоящей области техники. См. F. Ausubel, et al., ed. (1987) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York. Описанная в настоящем документе нуклеиновая кислота может представлять собой, например, ДНК или РНК и может содержать или не содержать интронные последовательности. Согласно определенным вариантам осуществления нуклеиновая кислота представляет собой молекулу кДНК.

Описанные в настоящем документе нуклеиновые кислоты могут быть получены с использованием стандартных способов молекулярной биологии. Для антител, экспрессируемых гибридами (например, гибридами, полученными от трансгенных мышей, несущих гены человеческого иммуноглобулина, как описано далее ниже), кДНК, кодирующие легкие и тяжелые цепи антитела, полученные с помощью гибридомы, можно получить стандартными способами амплификации ПЦР или клонирования кДНК. Для антител, полученных из библиотеки генов иммуноглобулина (например, с использованием способов фогового дисплея), нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело, можно извлечь из библиотеки.

Некоторые описанные в настоящем документе молекулы нуклеиновых кислот представляют собой молекулы, кодирующие последовательности VH и VL антител 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4, 17C8 или

любого из антител от TIM3.2 до TIM3.18. Иллюстративные последовательности ДНК, кодирующие последовательности VH 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8, представлены в SEQ ID NO: 167-173, 245-254 и 359. Иллюстративные последовательности ДНК, кодирующие последовательности VL 13A3 17C3 и 3G4, представлены в SEQ ID NO: 193. Иллюстративные последовательности ДНК, кодирующие последовательности VL 8B9, 8C4 и 17C8, представлены в SEQ ID NO: 194. Иллюстративные последовательности ДНК, кодирующие последовательности VL 9F6, представлены в SEQ ID NO: 194-196. Иллюстративные последовательности ДНК, кодирующие последовательности тяжелых цепей 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8, представлены в SEQ ID NO: 134-161, 205-244 и 355-358. Иллюстративные последовательности ДНК, кодирующие последовательности легких цепей 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8, представлены в SEQ ID NO: 162-166.

Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые домены VH и VL антител 13A3.IgG1.1 и 13A3.IgG1.3 (одна и та же варибельная область), представлены в виде SEQ ID NO: 167 и 193, соответственно. Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые тяжелые цепи антител 13A3.IgG1.1 и 13A3.IgG1.3, представлены в виде SEQ ID NO: 134 и 148, соответственно, и иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая зрелую легкую цепь антител 13A3.IgG1.1 и 13A3.IgG1.3, представлена в виде SEQ ID NO: 162.

Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые домены VH и VL антител 8B9.IgG1.1 и 8B9.IgG1.3 (одна и та же варибельная область), представлены в виде SEQ ID NO: 168 и 194, соответственно. Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые тяжелые цепи антител 8B9.IgG1.1 и 8B9.IgG1.3, представлены в виде SEQ ID NO: 135 и 149, соответственно, и иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая зрелую легкую цепь антител 8B9.IgG1.1 и 8B9.IgG1.3, представлена в виде SEQ ID NO: 163.

Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые домены VH и VL антител 8C4.IgG1.1 и 8C4.IgG1.3 (одна и та же варибельная область), представлены в виде SEQ ID NO: 169 и 194, соответственно. Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые тяжелые цепи антител 8C4.IgG1.1 и 8C4.IgG1.3, представлены в виде SEQ ID NO: 136 и 150, соответственно, и иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая зрелую легкую цепь антител 8C4.IgG1.1 и 8C4.IgG1.3, представлена в виде SEQ ID NO: 163.

Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые домены VH и VL антител 17C3.IgG1.1 и 17C3.IgG1.3 (одна и та же варибельная область), представлены в виде SEQ ID NO: 170 и 193, соответственно. Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые тяжелые цепи антител 17C3.IgG1.1 и 17C3.IgG1.3, представлены в виде SEQ ID NO: 137 и 151, соответственно, и иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая зрелую легкую цепь антител 17C3.IgG1.1 и 17C3.IgG1.3, представлена в виде SEQ ID NO: 162.

Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые домены VH и VL антител 9F6.IgG1.1 и 9F6.IgG1.3 (одна и та же варибельная область), представлены в виде SEQ ID NO: 171 и 197, соответственно. Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые тяжелые цепи антител 9F6.IgG1.1 и 9F6.IgG1.3, представлены в виде SEQ ID NO: 138 и 152, соответственно, и иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая зрелую легкую цепь антител 9F6.IgG1.1 и 9F6.IgG1.3, представлена в виде SEQ ID NO: 166.

Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые домены VH и VL антител 3G4.IgG1.1 и 3G4.IgG1.3 (одна и та же варибельная область), представлены в виде SEQ ID NO: 172 и 193, соответственно. Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые тяжелые цепи антител 3G4.IgG1.1 и 3G4.IgG1.3, представлены в виде SEQ ID NO: 139 и 153, соответственно, и иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая зрелую легкую цепь антител 3G4.IgG1.1 и 3G4.IgG1.3, представлена в виде SEQ ID NO: 162.

Иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие зрелые домены VH и VL антител 17C8.IgG1.1 и 17C8.IgG1.3 (одна и та же варибельная область), представлены в виде SEQ ID NO: 173 и 194, соответственно. Иллюстративные нуклеиновые кислоты,

кодирующие зрелые тяжелые цепи антител 17C8.IgG1.1 и 17C8.IgG1.3, представлены в виде SEQ ID NO: 140 и 154, соответственно, и иллюстративная нуклеиновая кислота, кодирующая зрелую легкую цепь антител 17C8.IgG1.1 и 17C8.IgG1.3, представлена в виде SEQ ID NO: 163.

Указанные выше иллюстративные нуклеиновые кислоты могут дополнительно содержать сигнальный пептид, представленный в SEQ ID NO: 267-267 и 361. Нуклеотидные последовательности, кодирующие эти сигнальные пептиды, представлены в виде SEQ ID NO: 272-276, 362 и 363.

Описанные в настоящем документе молекулы нуклеиновой кислоты могут быть модифицированы для удаления специфических последовательностей, например, последовательностей распознавания рестриционных ферментов, или для оптимизации кодонов.

Способ получения 13A3 IgG1.1, 8B9 IgG1.1, 8C4 IgG1.1, 17C3 IgG1.1, 9F6 IgG1.1, 3G4 IgG1.1, 17C8 IgG1.1 и/или TIM3.2-TIM3.18 IgG1.1 может предусматривать экспрессию тяжелых цепей и легких цепей в клеточной линии, содержащей нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи, с сигнальным пептидом, например, для 13A3 IgG1.1, SEQ ID NO: 269 и 268, соответственно. Способ

получения 13A3 IgG1.3, 8B9 IgG1.3, 8C4 IgG1.3, 17C3 IgG1.3, 9F6 IgG1.3, 3G4 IgG1.3 и/или 17C8 IgG1.3 может предусматривать экспрессию тяжелой цепи и легких цепей в клеточной линии, содержащей нуклеотидные последовательности, кодирующие тяжелые и легкие цепи с сигнальным пептидом, например, для 13A3 IgG1.3, SEQ ID NO: 274 и 273, соответственно. Клетки-хозяева, содержащие эти нуклеотидные последовательности, включены в настоящий документ.

После получения фрагментов ДНК, кодирующих сегменты VH и VL, этими фрагментами ДНК можно дополнительно манипулировать с помощью стандартных способов рекомбинантной ДНК, например, для преобразования генов вариабельной области в гены полноразмерных цепей антител, в гены фрагментов Fab или в ген scFv. В этих манипуляциях фрагмент ДНК, кодирующий VL или VH, функционально связан с другим фрагментом ДНК, кодирующим другой белок, такой как константная область антитела или гибкий линкер. Термин "функционально связанный", используемый в данном контексте, предназначен для обозначения того, что два фрагмента ДНК объединены так, что аминокислотные последовательности, кодируемые этими двумя фрагментами ДНК, остаются внутри рамки.

Выделенная ДНК, кодирующая область VH, может быть преобразована в ген полноразмерной тяжелой цепи путем функционального связывания ДНК, кодирующей VH, с другой молекулой ДНК, кодирующей константные области тяжелой цепи (шарнир, CH1, CH2 и/или CH3). Последовательности генов константной области тяжелой цепи человека известны в настоящей области техники (см., например, 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) и фрагменты ДНК, охватывающие эти области, могут быть получены с помощью стандартной амплификации ПЦР. Константная область тяжелой цепи может представлять собой константную область IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM или IgD, например, область IgG1. Для гена тяжелой цепи Fab-фрагмента ДНК, кодирующая VH, может быть функционально связана с другой молекулой ДНК, кодирующей только константную область CH1 тяжелой цепи.

Выделенная ДНК, кодирующая область VL, может быть преобразована в ген полноразмерной легкой цепи (а также ген легкой цепи Fab) путем функционального связывания ДНК, кодирующей VL, с другой молекулой ДНК, кодирующей константную область легкой цепи, CL. Последовательности генов константной области легкой цепи человека известны в настоящей области техники (см., например, 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), и фрагменты ДНК, охватывающие эти области, могут быть получены с помощью стандартной амплификации ПЦР. Константная область легкой цепи может представлять собой константную область каппа или лямбда.

Для создания гена scFv фрагменты ДНК, кодирующие VH и VL, функционально связывают с другим фрагментом, кодирующим гибкий линкер, например, кодирующим аминокислотную последовательность (Gly₄-Ser)₃, так что последовательности VH и VL могут быть экспрессированы в виде непрерывного одноцепочечного белка с областями VL и VH, соединенными гибким линкером (см., например, Bird et al., (1988) *Science* 242:423-426; Huston et al., (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; McCafferty et al., (1990) *Nature* 348:552-554).

В настоящем документе также предусмотрены молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие последовательности VH и VL, которые гомологичны таковым антител 17C3, 8B9, 8C4, 3G4, 17C8, 9F6, 13A3 и любых антител от TIM3.2 до TIM3.18. Иллюстративные молекулы нуклеиновой кислоты кодируют последовательности VH и VL, которые по меньшей мере на 70% идентичны, например, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 99% идентичны молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим последовательности VH и VL из 17C3, 8B9, 8C4, 3G4, 17C8, 9F6, 13A3 или любого из антител от TIM3.2 до TIM3.18. В настоящем документе также предусмотрены молекулы нуклеиновой кислоты с консервативными заменами (т.е. заменами, которые не изменяют полученную аминокислотную последовательность при трансляции молекулы нуклеиновой кислоты), например, для оптимизации кодонов.

Также предусмотрены нуклеиновые кислоты, кодирующие области VH и/или VL антител к TIM3, таких как описанные в настоящем документе антитела к TIM3, причем эти нуклеиновые кислоты содержат нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична любой из нуклеотидных последовательностей, кодирующих области VH и/или VL описанных в настоящем документе антител к TIM3.

Также предусмотрены нуклеиновые кислоты, кодирующие тяжелую цепь и/или легкую цепь антител к TIM3, таких как описанные в настоящем документе антитела к TIM3, причем эти нуклеиновые кислоты содержат нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере приблизительно на 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% идентична любой из нуклеотидных последовательностей, кодирующих тяжелые и/или легкие цепи описанных в настоящем документе антител к TIM3.

XI. Производство антител.

Описанные в настоящем документе моноклональные антитела к TIM3 могут быть получены с использованием различных известных способов, таких как стандартный способ гибридизации соматических клеток, описанный Kohler and Milstein, *Nature* 256: 495 (1975). Хотя процедуры гибридизации соматических клеток являются предпочтительными, в принципе, могут быть использованы и другие способы

получения моноклональных антител, например, вирусная или онкогенная трансформация В-лимфоцитов, способ фагового дисплея с использованием библиотек генов антител человека.

Предпочтительной животной системой для получения гибридом является мышьяная система. Производство гибридомы у мыши представляет собой очень хорошо отработанную процедуру. Протоколы и способы иммунизации для выделения иммунизированных спленоцитов для слияния известны в настоящей области техники. Партнеры слияния (например, клетки миеломы мыши) и процедуры слияния также известны.

Описанные в настоящем документе химерные или гуманизированные антитела к TIM3 могут быть получены на основе последовательности мышьяного моноклонального антитела, полученного, как описано выше. ДНК, кодирующая тяжелую и легкую цепи иммуноглобулинов, может быть получена из представляющей интерес мышьяной гибридомы и сконструирована так, чтобы содержать не мышьяные (например, человеческие) последовательности иммуноглобулина, используя стандартные способы молекулярной биологии. Например, для создания химерного антитела переменные области мыши могут быть связаны с константными областями человека с использованием способов, известных в настоящей области техники (см., например, патент США № 4816567, выданный Cabilly et al.). Чтобы создать гуманизированное антитело, области CDR мыши могут быть вставлены в человеческий каркас с использованием способов, известных в настоящей области техники (см., например, патент США № 5225539, выданный Winter, и патенты США № 5530101; 5585809; 5693772 и 6180370, выданные Queen et al.).

Согласно одному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 представляют собой человеческие моноклональные антитела. Такие человеческие моноклональные антитела, направленные против TIM3, могут быть получены с использованием трансгенных или трансхромосомных мышей, несущих части иммунной системы человека, а не мышьяную систему. Эти трансгенные и трансхромосомные мыши включают в себя мышей, называемых в настоящем документе мышьями HuMAb и мышьями KM, соответственно, и собирательно упоминаются в настоящем документе как "мышьяи с Ig человека".

HUMAB-MOUSE® (Medarex, Inc.) содержит минилокусы гена иммуноглобулина человека, которые кодируют ререаранжированные последовательности тяжелой (μ и γ) и легкой цепи к иммуноглобулинов человека вместе с целевыми мутациями, которые инактивируют эндогенные локусы цепей μ и κ (см., например, Lonberg, et al. (1994) *Nature* 368 (6474): 856-859). Соответственно, мышьяи демонстрируют сниженную экспрессию мышьяного IgM или κ , и в ответ на иммунизацию введенные человеческие трансгены тяжелой и легкой цепи подвергаются переключению классов и соматической мутации, чтобы производить человеческий моноклональный IgGk с высокой аффинностью (Lonberg, N. et al. (1994) выше, рассмотрено в Lonberg, N. (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113:49-101; Lonberg, N. and Huszar, D. (1995) *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 и Harding, F. and Lonberg, N. (1995) *Ann. NY. Acad. Sci.* 764:536-546). Получение и применение мышей HuMAb и геномные модификации, которые несут такие мышьяи, дополнительно описаны в Taylor, L. et al. (1992) *Nucleic Acids Research* 20:6287-6295; Chen, J. et al., (1993) *International Immunology* 5: 647-656; Tuaille et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:3720-3724; Choi et al. (1993) *Nature Genetics* 4:117-123; Chen, J. et al. (1993) *EMBO J.* 12: 821-830; Tuaille et al. (1994) *Immunol.* 152:2912-2920; Taylor, L. et al. (1994) *International Immunology* 6: 579-591 и Fishwild, D. et al. (1996) *Nature Biotechnology* 14: 845-851. Смотрите дополнительно патенты США № 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; 5789650; 5877397; 5661016; 5814318; 5874299 и 5770429; все выданные Lonberg and Kay; патент США № 5545807, выданный Surani et al.; публикации PCT № WO 92/03918, WO 93/12227, WO 94/25585, WO 97/13852, WO 98/24884 и WO 99/45962, все выданные Lonberg and Kay; и публикацию PCT № WO 01/14424, выданную Korman et al.

Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 получают с использованием мышьяи, которая несет последовательности иммуноглобулина человека на трансгенах и трансхромосомах, такой как мышья, которая несет трансген тяжелой цепи человека и трансхромосому легкой цепи человека. Такие мышьяи, называемые в настоящем документе "мышьями KM", подробно описаны в публикации PCT WO 02/43478, выданной Ishida et al.

Кроме того, в настоящей области техники доступны альтернативные системы трансгенных животных, экспрессирующие гены человеческого иммуноглобулина, и их можно использовать для получения описанных в настоящем документе антител к TIM3. Например, можно использовать альтернативную трансгенную систему, называемую Xenomouse (Abgenix, Inc.); такие мышьяи описаны, например, в патентах США № 5939598; 6075181; 6114598; 6150584 и 6162963, выданных Kucherlapati et al.

Кроме того, альтернативные трансхромосомные системы животных, экспрессирующие гены иммуноглобулина человека, доступны в настоящей области техники и могут быть использованы для получения описанных в настоящем документе антител к TIM3. Например, можно использовать мышей, несущих как трансхромосому тяжелой цепи человека, так и трансхромосому легкой цепи человека, называемых "мышьями TC"; такие мышьяи описаны в Tomizuka et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:722-727. Кроме того, коровы, несущие трансхромосомы тяжелой и легкой цепи человека, были описаны в настоящей области техники (Kuroiwa et al. (2002) *Nature Biotechnology* 20:889-894) и могут быть использованы для

получения описанных в настоящем документе антител к TIM3.

Дополнительные описанные в настоящей области техники мышинные системы для получения человеческих антител, например, человеческих антител к TIM3, включают в себя (i) мышшь VE-LOCLMMUNE® (Regeneron Pharmaceuticals, Inc.), в которой эндогенные мышинные вариабельные области тяжелой и легкой цепи были заменены посредством гомологичной рекомбинации на вариабельные области тяжелой и легкой цепи человека, функционально связанные с мышинными эндогенными константными областями, так что химерные антитела (V человека/С мышши) вырабатываются у мышшей, а затем впоследствии превращаются в полностью человеческие антитела с использованием стандартных способов рекомбинантной ДНК; и (ii) мышшь MEMO® (Merus Biopharmaceuticals, Inc.), в которой мышшь содержит ререаранжированные вариабельные области тяжелой цепи человека, но одну ререаранжированную вариабельную область легкой цепи человека. Такие мышши и их применение для получения антител описаны, например, в WO 2009/15777, US 2010/0069614, WO 2011/072204, WO 2011/097603, WO 2011/163311, WO 2011/163314, WO 2012/148873, US 2012/0070861 и US 2012/0073004.

Описанные в настоящем документе моноклональные антитела к TIM3 человека также могут быть получены с использованием способов фагового дисплея для скрининга библиотек генов иммуноглобулина человека. Такие способы фагового дисплея для выделения человеческих антител известны в настоящей области техники. Смотрите, например: патенты США № 5223409; 5403484 и 5571698, выданные Ladner et al.; патенты США № 5427908 и 5580717, выданные Dower et al.; патенты США № 5969108 и 6172197, выданные McCafferty et al., и патенты США № 5887993; 6521404; 6544731; 6555313; 6582915 и 6593081, выданные Griffiths et al.

Описанные в настоящем документе человеческие моноклональные антитела к TIM3 также могут быть получены с использованием мышшей SCID, в которых человеческие иммунные клетки были восстановлены таким образом, что ответ антител человека может производиться при иммунизации. Такие мышши описаны, например, в патентах США № 5479996 и 5698767, выданных Wilson et al.

XI.A. Иммунизация.

Для получения полностью человеческих антител к TIM3 трансгенных или трансхромосомных мышшей, содержащих гены иммуноглобулина человека (например, мышши HCo2, HCo7 или KM), можно иммунизировать очищенным или обогащенным препаратом антигена TIM3 и/или клеток, экспрессирующих TIM3 или фрагмент из них, как описано для других антигенов, например, в публикациях Lonberg et al., (1994) Nature 368 (6474): 856-859; Fishwild et al., (1996) Nature Biotechnology 14: 845-851 и WO 98/24884. Альтернативно, мышшей можно иммунизировать ДНК, кодирующей TIM3 человека или его фрагмент. Согласно некоторым вариантам осуществления мышши могут быть в возрасте 6-16 недель после первой инфузии. Например, очищенный или обогащенный препарат (5-50 мкг) рекомбинантного антигена TIM3 можно использовать для иммунизации мышшей NuMAb внутрибрюшинно. В случае, когда иммунизация с использованием очищенного или обогащенного препарата антигена TIM3 не приводит к антителам, мышшей также можно иммунизировать клетками, экспрессирующими TIM3, например, клеточной линией, для стимуляции иммунных ответов. Иллюстративные клеточные линии включают в себя сверхэкспрессирующие TIM3 стабильные клеточные линии CHO и Raji.

Совокупный опыт применения различных антигенов показал, что трансгенные мышши NuMAb лучше всего реагируют при первоначальной иммунизации внутрибрюшинно (IP) или подкожно (SC) антигеном в адьюванте Рибиди с последующей иммунизацией IP/SC каждые две недели (до общего количества 10) с антигеном в адьюванте Рибиди. Иммунный ответ можно контролировать в течение протокола иммунизации с помощью образцов плазмы, полученных с помощью ретроорбитальных заборов крови. Плазму можно подвергать скринингу с помощью ELISA и FACS (как описано ниже), и мышшей с достаточными титрами иммуноглобулина TIM3 человека можно использовать для слияний. Мышшей можно иммунизировать внутривенно антигеном за 3 дня до умерщвления и удаления селезенки и лимфатических узлов. Ожидается, что для каждой иммунизации может потребоваться 2-3 слияния. Для каждого антигена, как правило, иммунизируют от 6 до 24 мышшей. Как правило, используют штаммы HCo7, HCo2 и KM. Кроме того, оба трансгена HCo7 и HCo2 можно воспроизвести вместе в одной мышши, имеющей два разных трансгена тяжелой цепи человека (HCo7/HCo2).

XI.B. Создание гибридом, производящих моноклональные антитела к TIM3.

Для создания гибридом, производящих описанные в настоящем документе моноклональные антитела к TIM3 человека, спленоциты и/или клетки лимфатических узлов от иммунизированных мышшей могут быть выделены и слиты с соответствующей иммортализованной клеточной линией, такой как клеточная линия миеломы мышши. Полученные гибридомы могут быть подвергнуты скринингу в отношении производства антигенспецифических антител. Например, одноклеточные суспензии лимфоцитов селезенки из иммунизированных мышшей можно слить с несекретирующими Sp2/0 клетками миеломы мышши (ATCC, CRL 1581) с PEG. Клетки можно высевать в микропланшет с плоским дном с последующей инкубацией в селективной среде. Через несколько недель клетки можно культивировать в среде. Отдельные лунки могут затем быть подвергнуты скринингу с помощью ELISA на человеческие моноклональные антитела IgM и IgG. Когда происходит обширный рост гибридомы, среду можно наблюдать, как правило,

через 10-14 дней. Секретирующие антитела гибридомы могут быть воспроизведены, подвергнуты повторному скринингу, и, если они все еще положительны в отношении человеческого IgG, моноклональные антитела могут быть субклонированы по меньшей мере дважды путем ограничения разведения. Стабильные субклоны могут затем культивироваться *in vitro* для получения небольших количеств антител в тканевой культуральной среде для характеристики.

Для очистки моноклональных антител человека выбранные гибридомы могут быть выращены в двухлитровых вращающихся колбах для очистки моноклональных антител. Супернатанты могут быть отфильтрованы и сконцентрированы перед аффинной хроматографией с белком А-сефарозой (Pharmacia, Piscataway, N.J.). Элюированный IgG можно проверить гель-электрофорезом и высокоэффективной жидкостной хроматографией для обеспечения чистоты. Буферный раствор можно заменить на PBS, а концентрацию можно определить по OD280 с использованием коэффициента экстинкции 1,43. Моноклональные антитела можно разделить на аликвоты и хранить.

XI.C. Получение трансфектом, производящих моноклональных антител к TIM3.

Антитела могут быть получены в трансфектоне клетки-хозяина с использованием, например, комбинации способов рекомбинантной ДНК и способов генной трансфекции, как хорошо известно в настоящей области техники (Morrison S. (1985) Science 229: 1202).

Например, чтобы экспрессировать антитела или фрагменты антител, ДНК, кодирующие частичные или полноразмерные легкие и тяжелые цепи, могут быть получены стандартными способами молекулярной биологии (например, амплификацией ПЦР или клонированием кДНК с использованием гибридомы, которая экспрессирует представляющее интерес антитело), и ДНК могут быть встроены в векторы экспрессии, так что гены будут функционально связаны с транскрипционными и трансляционными контрольными последовательностями. В этом контексте термин "функционально связанный" предназначен для обозначения того, что ген антитела лигируется в вектор таким образом, что транскрипционные и трансляционные контрольные последовательности внутри вектора выполняют предназначенную для них функцию регуляции транскрипции и трансляции гена антитела. Вектор экспрессии и последовательности контроля экспрессии выбирают так, чтобы они были совместимы с используемой клеткой-хозяином экспрессии. Ген легкой цепи антитела и ген тяжелой цепи антитела могут быть встроены в отдельный вектор, или оба гена встроены в один и тот же вектор экспрессии. Гены антитела встраивают в вектор(ы) экспрессии стандартными способами (например, лигированием комплементарных сайтов рестрикции на фрагменте гена и векторе антитела или лигированием тупого конца, если сайты рестрикции отсутствуют). Вариабельные области легкой и тяжелой цепи описанных в настоящем документе антител к TIM3 можно использовать для создания генов полноразмерных антител любого изотипа антитела путем их встраивания в векторы экспрессии, уже кодирующие константные области тяжелой цепи и константные области легкой цепи желаемого изотипа, так что сегмент V_H будет функционально связан с сегментом C_H в векторе, а сегмент V_L будет функционально связан с сегментом C_L в векторе.

Дополнительно или альтернативно, рекомбинантный вектор экспрессии может кодировать сигнальный пептид, который облегчает секрецию цепи антитела из клетки-хозяина. Ген цепи антитела может быть клонирован в вектор таким образом, что сигнальный пептид будет связан в рамке с аминоконцом гена цепи антитела. Сигнальный пептид может представлять собой сигнальный пептид иммуноглобулина или гетерологичный сигнальный пептид (т.е. сигнальный пептид из белка, не представляющего собой иммуноглобулин).

Согласно иллюстративным вариантам осуществления могут использоваться следующие сигнальные пептиды из тяжелой и легкой цепей антитела человека: MDWTWRVFCLLAVAPGAHS (SEQ ID NO: 267); METPAQLLFLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268); MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO: 269); MEFGLSWVFLVAIKGVQC (SEQ ID NO: 270); MDMRVPQLLGLLLWLPGARC (SEQ ID NO: 271) или MRAWIFFLLCLAGRALA (SEQ ID NO: 361). Согласно конкретному варианту осуществления сигнальная последовательность, используемая для экспрессии любого из описанных в настоящем документе антител к TIM3, представляет собой SEQ ID NO: 361. Тяжелые и легкие цепи антител к TIM3 могут быть экспрессированы с соответствующей сигнальной последовательностью, которая была связана с каждой цепью в гибридоме, из которой они были клонированы. Ниже представлены сигнальные последовательности различных антител к TIM3, которые присутствуют в гибридоме, из которой они были клонированы, эти сигнальные последовательности можно использовать для экспрессии того же антитела или другого антитела:

(i) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VH 13A3:

MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO: 269);

(ii) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VH 13A3:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC (SEQ ID NO: 274);

(iii) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VL 13A3:

METPAQLLFLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268);

(iv) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VL 13A3:

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ

ID NO: 273);

(v) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VH 8B9:

MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO: 269);

(vi) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VH 8B9:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC (SEQ ID NO: 274);

(vii) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VL 8B9:

МЕТРАQLLFLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268);

(viii) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VL8B9:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACC GGA (SEQ ID NO: 273);

(ix) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VH 8C4:

MKHLWFFLLLVAAPRWVLS (SEQ ID NO: 269);

(x) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VH 8C4:

ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC (SEQ ID NO: 274);

(xi) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VL 8C4:

МЕТРАQLLFLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268);

(xii) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VL 8C4:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273);

(xiii) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VH 17C3:

MDWTWRVFLAVAPGANS (SEQ ID NO: 267);

(xiv) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VH 17C3:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 272);

(xv) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VL 17C3:

МЕТРАQLLFLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268);

(xvi) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VL 17C3:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273);

(xvii) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VH 9F6:

MEFGLSWVFLVAIHKGVQC (SEQ ID NO: 270);

(xviii) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VH 9F6:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 275);

(xix) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VL1 9F6:

MDMRVTAQLLGLLLLWLPGARC (SEQ ID NO: 271);

(xx) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VL1 9F6:

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGT GCCA-GATGT (SEQ ID NO: 276);

(xxi) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VL2 и VL3 9F6:

МЕТРАQLLFLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268);

(xxii) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VL2 и VL3 9F6:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273);

(xxiii) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VH 3G4:

MEFGLSWVFLVAIHKGVQC (SEQ ID NO: 270);

(xxiv) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VH 3G4:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 275);

(xxv) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VL 3G4:

МЕТРАQLLFLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268);

(xxvi) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VL 3G4:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273);

(xxvii) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VH 17C8:

MEFGLSWVFLVAIHKGVQC (SEQ ID NO: 270);

(xxviii) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VH 17C8:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 275);

(xxix) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности VL 17C8:

МЕТРАQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 268);

(xxx) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности VL 17C8:

ATGGAAACCCCAGCGCAGCTTCTCTTCCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGA (SEQ ID NO: 273).

Согласно другому варианту осуществления тяжелые и легкие цепи антител к TIM3 (например, TIM3.2-TIM3.18) могут быть сконструированы с сигнальными последовательностями, которые отличаются от тех, которые присутствуют в гибридомах, из которых они были клонированы. Примеры таких последовательностей включают в себя, без ограничения, следующие:

(i) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности для тяжелой цепи:

ATGAGGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGAGAGCGCTCGCA (SEQ ID NO: 362);

(ii) последовательность нуклеиновой кислоты сигнальной последовательности для легкой цепи:

ATGAGGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGCGCGCCTTGGCC (SEQ ID NO: 363);

(iii) аминокислотная последовательность сигнальной последовательности для тяжелой и легкой цепей: MRAWIFFLLCLAGRALA (SEQ ID NO: 361).

В дополнение к генам цепи антитела рекомбинантные векторы экспрессии могут нести регуляторные последовательности, которые контролируют экспрессию генов цепи антитела в клетке-хозяине. Предполагается, что термин "регуляторная последовательность" включает в себя промоторы, энхансеры и другие элементы контроля экспрессии (например, сигналы полиаденилирования), которые контролируют транскрипцию или трансляцию генов цепи антитела. Такие регуляторные последовательности описаны, например, в Goeddel (*Gene Expression Technology. Methods in Enzymology* 185, Academic Press, San Diego, CA (1990)). Специалистам в настоящей области техники будет понятно, что разработка вектора экспрессии, включая в себя выбор регуляторных последовательностей, может зависеть от таких факторов, как выбор подлежащей трансформации клетки-хозяина, уровень экспрессии желаемого белка и т.д. Предпочтительные регуляторные последовательности для экспрессии клеток-хозяев млекопитающих включают в себя вирусные элементы, которые направляют высокие уровни экспрессии белка в клетках млекопитающих, такие как промоторы и/или энхансеры, полученные из цитомегаловируса (CMV), вируса обезьян 40 (SV40), аденовируса (например, главный поздний промотор аденовируса (AdMLP) и полиомы. В качестве альтернативы можно использовать невирусные регуляторные последовательности, такие как убиквитиновый промотор или Р-глобиновый промотор. Кроме того, регуляторные элементы, состоящие из последовательностей из разных источников, таких как промоторная система SRa, которая содержит последовательности из раннего промотора SV40 и длинный концевой повтор вируса лейкоза Т-клеток человека 1 типа (Takebe, Y. et al. (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8: 466-472).

В дополнение к генам цепи антител и регуляторным последовательностям рекомбинантные векторы экспрессии могут нести дополнительные последовательности, такие как последовательности, которые регулируют репликацию вектора в клетках-хозяевах (например, точки начала репликации) и селективные маркерные гены. Селективный маркерный ген облегчает отбор клеток-хозяев, в которые был введен вектор (см., например, патенты США № 4399216, 4634665 и 5179017, все выданные Axel et al). Например, как правило, селективный маркерный ген придает устойчивость к лекарственным средствам, таким как G418, гигромицин или метотрексат, клетке-хозяину, в которую был введен вектор. Предпочтительные селективные маркерные гены включают в себя ген дигидрофолатредуктазы (DHFR) (для использования в клетках-хозяевах dhfr с селекцией/амплификацией метотрексата) и ген пео (для селекции G418).

Для экспрессии легкой и тяжелой цепей вектор(ы) экспрессии, кодирующий тяжелую и легкую цепи, трансфицируют в клетку-хозяина стандартными способами. Предполагается, что различные формы термина "трансфекция" охватывают широкий спектр способов, как правило, используемых для введения экзогенной ДНК в прокариотическую или эукариотическую клетку-хозяина, например, электропорацию, осаждение фосфатом кальция, трансфекцию DEAE-декстраном и т.п.

Хотя теоретически возможно экспрессировать описанные в настоящем документе антитела к TIM3 либо в прокариотических, либо в эукариотических клетках-хозяевах, экспрессия антител в эукариотических клетках и наиболее предпочтительно в клетках-хозяевах млекопитающих является наиболее предпочтительной, поскольку такие эукариотические клетки и особенно клетки млекопитающих с большей вероятностью, чем прокариотические клетки, собирают и секретируют правильно свернутое и иммунологически активное антитело. Сообщалось, что прокариотическая экспрессия генов антител неэффективна для производства активных антител с высоким выходом (Boss, M.A. and Wood, C.R. (1985), *Immunology Today* 6: 12-13).

Некоторые клетки-хозяева млекопитающих для экспрессии рекомбинантных описанных в настоящем документе антител к TIM3 включают в себя клетки яичника китайского хомячка (клетки CHO) (включая в себя клетки dhfr-CHO, описанные в Urlaub and Chasin, (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220), используется с селективным маркером DHFR, например, как описано в R.J. Kaufman and P.A. Sharp (1982), *Mol. Biol.* 759:601-621), клетки миеломы NSO, клетки COS и клетки SP2. В частности, для использования с клетками миеломы NSO другая система экспрессии представляет собой систему экспрессии гена GS, раскрытую в WO 87/04462, WO 89/01036 и EP 338,841. Когда рекомбинантные векторы экспрессии, кодирующие гены антител, вводят в клетки-хозяева млекопитающих, антитела полу-

чают путем культивирования клеток-хозяев в течение периода времени, достаточного для обеспечения возможности экспрессии антитела в клетках-хозяевах или, более предпочтительно, секреции антитела в культуральную среду, в которой выращиваются клетки-хозяева. Антитела могут быть выделены из культуральной среды с использованием стандартных способов очистки белка.

ХII. Анализы.

Описанные в настоящем документе антитела к ТИМ3 можно исследовать на связывание с ТИМ3 человека, например, с помощью стандартного анализа ELISA. Вкратце, планшеты для микротитрования покрывают очищенным ТИМ3, а затем блокируют бычьим сывороточным альбумином. Разведения антител (например, разведения плазмы от мышей, иммунизированных ТИМ3) добавляют в каждую лунку и инкубируют. Планшеты промывают и инкубируют со вторичным реагентом (например, для антител человека, специфический к Fc IgG человека козий поликлональный реагент), конъюгированным с пероксидазой хрена (HRP). После промывания планшеты могут быть проявлены и проанализированы с помощью спектрофотометра. Затем сыворотку от иммунизированных мышей можно дополнительно подвергнуть скринингу с помощью проточной цитометрии на связывание с клеточной линией, экспрессирующей ТИМ3 человека, но не с контрольной клеточной линией, которая не экспрессирует ТИМ3.

Вкратце, связывание антител к ТИМ3 можно оценить путем инкубации клеток CHO, экспрессирующих ТИМ3, с антителом к ТИМ3. Клетки могут быть промыты, а связывание можно обнаружить с помощью антител к IgG человека. Проточный цитометрический анализ может быть выполнен с использованием проточной цитометрии FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA). Мышей, у которых развиваются самые высокие титры, можно использовать для слияний.

Описанный выше анализ ELISA можно использовать для скрининга антител и, таким образом, гибридом, которые производят антитела, которые демонстрируют положительную реактивность с иммуногеном ТИМ3. Затем могут быть субклонированы и далее охарактеризованы гибридомы, которые производят антитела, которые связываются с высокой аффинностью с ТИМ3. Один клон из каждой гибридомы, который сохраняет реактивность исходных клеток (с помощью ELISA), затем может быть выбран для создания банка клеток и для очистки антител.

Для очистки антител к ТИМ3 могут быть выращены отобранные гибридомы для очистки моноклональных антител. Супернатанты могут быть отфильтрованы и сконцентрированы перед аффинной хроматографией. Элюированный IgG может быть проверен посредством гель-электрофореза и высокоэффективной жидкостной хроматографии для обеспечения чистоты. Буферный раствор может быть заменен, и концентрация может быть определена. Моноклональные антитела можно разделить на аликвоты и хранить.

Чтобы определить, связываются ли выбранные моноклональные антитела к ТИМ3 с уникальными эпитопами, каждое антитело может быть биотинилировано с использованием коммерчески доступных реагентов (Pierce, Rockford, IL). Связывание биотинилированного моноклонального антитела можно обнаружить с помощью меченного стрептавидинового зонда. Конкурентные исследования с использованием немеченых моноклональных антител и биотинилированных моноклональных антител можно проводить с использованием покрытых ТИМ3 планшетов для ELISA, как описано выше.

Для определения изотипа очищенных антител можно проводить изотипирующий анализ ELISA с использованием реагентов, специфических для антител определенного изотипа. Например, для определения изотипа человеческого моноклонального антитела лунки планшетов для микротитрования можно покрыть антителом к иммуноглобулину человека в концентрации 1 мкг/мл в течение ночи при температуре 4°C. После блокирования 1% БСА планшеты подвергают реакции с 1 мкг/мл или менее исследуемых моноклональных антител или очищенных изотипических контролей при температуре окружающей среды в течение одного-двух часов. Затем лунки могут реагировать со специфическими либо к IgG1 человека, либо к IgM человека конъюгированными с щелочной фосфатазой зондами. Планшеты проявляют и анализируют, как описано выше.

Для исследования связывания моноклональных антител с живыми клетками, экспрессирующими ТИМ3, может быть использована проточная цитометрия, как описано в примерах. Вкратце, клеточные линии, экспрессирующие мембраносвязанный ТИМ3 (выращенные в стандартных условиях роста), смешивают с различными концентрациями моноклональных антител в PBS, содержащем 0,1% БСА, при температуре 4°C в течение 1 часа. После промывания клетки реагируют с меченым флуоресцеином антителом к IgG в тех же условиях, что и окрашивание первичного антитела. Образцы могут быть проанализированы с помощью прибора FACScan с использованием свойств светового и бокового рассеяния для гейтирования отдельных клеток и определения связывания меченых антител. Может быть использован альтернативный анализ с использованием анализа флуоресцентной микроскопии (в дополнение или вместо) посредством проточной цитометрии. Клетки можно окрашивать точно так же, как описано выше, и исследовать с помощью флуоресцентной микроскопии. Этот способ позволяет визуализировать отдельные клетки, но может иметь пониженную чувствительность в зависимости от плотности антигена.

Антитела к ТИМ3 могут быть дополнительно исследованы на реактивность с антигеном ТИМ3 с помощью вестерн-блоттинга. Вкратце, клеточные экстракты из клеток, экспрессирующих ТИМ3, могут быть получены и подвергнуты электрофорезу в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия.

После электрофореза отделенные антигены будут перенесены на нитроцеллюлозные мембраны, заблокированы 20% мышиной сывороткой и зондированы с исследуемыми моноклональными антителами. Связывание IgG может быть обнаружено с использованием щелочной фосфатазы к IgG и проявлено с использованием субстратных таблеток BCIP/NBT (Sigma Chem. Co., St. Louis, MO).

Способы анализа аффинности связывания, перекрестной реактивности и кинетики связывания различных антител к TIM3 включают в себя стандартные анализы, известные в настоящей области техники, например, анализ поверхностного плазмонного резонанса (SPR) BIACORE™ с использованием прибора BIACORE™ 2000 SPR (Biacore AB, Упсала, Швеция).

Для определения биологической активности антител к TIM3 (которые можно использовать, например, для сравнения различных антител к TIM3) можно использовать различные анализы, такие как описанные в настоящем документе:

(1) анализы активации Т-клеток, такие как анализы с использованием очищенных Т-клеток, полученных из РВМС доноров-людей. Анализы могут проводиться со всеми Т-клетками или их субпопуляциями, например, Th1-клетками, Т-цитотоксическими клетками, Тreg-клетками, CD4⁺ Т-клетками, CD8⁺ Т-клетками, при условии, что они экспрессируют TIM3. Активация может быть измерена путем определения уровня секреции определенных цитокинов, например, интерферона- γ или IL-2, или уровня пролиферации Т-клеток. Без ограничения конкретным механизмом действия, связывание антител к TIM3 с TIM3 на Т-клетках может предотвращать связывание TIM3 с лигандом TIM3 (предполагаемые лиганды TIM3 включают в себя галектин-9, HMGB1, семафорин-4А, CEACAM-1, ILT-4 и фосфатидилсерин) и тем самым предотвращают опосредованную TIM3 передачу сигналов в Т-клетке, тем самым предотвращая негативную регуляцию Т-клеток с помощью TIM3. Иллюстративные анализы, включая в себя анализы Th1, анализы TIL и реакции смешанных культур лимфоцитов (MLR), представлены в примерах;

(2) анализы измерения стимуляции макрофагов, например, макрофагов M1 или M2; а также

(3) анализы измерения секреции миелоид-ассоциированных цитокинов, например, TNF α , IL-1 β , GM-CSF, IL-6, IL-2, IL-10, CCL2, CCL3, CCL4 или CCL5 из TIM3-положительных миелоидных клеток. Согласно определенному варианту осуществления антитела к TIM3 стимулируют секрецию TNF α , IL-1 β , GM-CSF, IL-6 и IL-2 и/или ингибируют секрецию IL-10, CCL2, CCL3, CCL4 или CCL5 из TIM3 положительных миелоидных клеток.

Как правило, любой способ исследования биологической активности средства, которое ингибирует иммунные ответы, можно использовать для характеристики биологической активности антител к TIM3, например, описанных в литературе (включая в себя патенты и заявки на патенты), относящейся к TIM3.

XIII. Иммуноконъюгаты, производные антител и диагностика.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 можно использовать для диагностических целей, включая в себя исследование образцов и визуализацию *in vivo*, и для этой цели антитело (или его связывающий фрагмент) можно конъюгировать с подходящим обнаруживаемым средством для образования иммуноконъюгата. Для диагностических целей подходящими средствами являются обнаруживаемые метки, которые включают в себя радиоизотопы, для визуализации всего организма, и радиоизотопы, ферменты, флуоресцентные метки и другие подходящие тэги антител для исследования образцов.

Обнаруживаемые метки, которые могут быть связаны с любым описанным в настоящем документе антителом к TIM3, могут быть любого из различных типов, используемых в настоящее время в области диагностики *in vitro*, включая в себя метки в виде частиц, включая в себя такие золи металлов, как коллоидное золото, такие изотопы, как I¹²⁵ или Tc⁹⁹, представленные, например, с пептидным хелатирующим средством типа N₂S₂, N₃S или N₄, хромофорами, включая в себя флуоресцентные маркеры, люминесцентные маркеры, фосфоресцентные маркеры и т.п., а также ферментными метками, которые превращают данный субстрат в обнаруживаемый маркер, и полинуклеотидными маркерами, которые обнаруживаются после амплификации, например, с помощью полимеразной цепной реакции. Подходящие ферментные метки включают в себя пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу и т.п. Например, метка может представлять собой фермент щелочную фосфатазу, определяемую путем измерения наличия или образования хемилюминесценции после превращения 1,2-диоксетановых субстратов, таких как адамантилметоксифосфорилорксибензидиоксетан (AMPPD), динатрий 3-(4-(метоксиспиро{1,2-диоксетан-3,2'-(5'-хлор)трицикло{3.3.1.1.3,7} декан}-4-ил)фенил)фосфат (CSPD), а также CDP и CDP-STAR® или другие люминесцентные субстраты, хорошо известные специалистам в настоящей области техники, например, хелаты подходящих лантанидов, такие как тербий (III) и европий (III). Средство обнаружения определяется выбранной меткой. Внешний вид метки или продуктов ее реакции может быть виден невооруженным глазом в случае, когда метка содержит частицы и накапливается в соответствующем количестве, или с использованием таких инструментов, как спектрофотометр, люминометр, флуориметр и т.п., все в соответствии со стандартной практикой.

Согласно некоторым вариантам осуществления способы конъюгирования приводят к связям, которые являются по существу (или почти) неиммуногенными, например, пептидным (т.е. амидным), сульфидным, (стерически затрудненным), дисульфидным, гидразоновым и эфирным связям. Эти связи являются почти неиммуногенными и демонстрируют разумную стабильность в сыворотке (см., например,

Senter, P.D., *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13 (2009) 235-244; WO 2009/059278; WO 95/17886).

В зависимости от биохимической природы фрагмента и антитела могут быть использованы разные стратегии конъюгации. В случае, когда фрагмент встречается в природе или рекомбинантный из 50-500 аминокислот, в учебниках описаны стандартные процедуры, описывающие химию синтеза белковых конъюгатов, которые могут быть легко выполнены специалистом в настоящей области техники (см., например, Hackenberger, C. P. R., and Schwarzer, D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 47 (2008) 10030-10074). Согласно одному варианту осуществления используют реакцию малеинимидного фрагмента с остатком цистеина в антителе или фрагменте. Это особенно подходящая химия сочетания в случае, например, когда используется фрагмент Fab или Fab' антитела. Альтернативно, согласно одному варианту осуществления осуществляют соединение с С-концом антитела или фрагмента. С-концевая модификация белка, например, Fab-фрагмента, может быть выполнена, как описано (Sunbul, M. and Yin, J., *Org. Biomol. Chem.* 7 (2009) 3361-3371).

В общем, сайт-специфическая реакция и ковалентное связывание основаны на превращении природной аминокислоты в аминокислоту с реакционной способностью, которая ортогональна реакционной способности других присутствующих функциональных групп. Например, специфический цистеин в контексте редкой последовательности может быть ферментативно превращен в альдегид (см. Frese, M. A., and Dierks, T., *ChemBioChem.* 10 (2009) 425-427). Также возможно получить желаемую модификацию аминокислоты путем использования специфической ферментативной реактивности определенных ферментов с природной аминокислотой в заданном контексте последовательности (см., например, Taki, M. et al., *Prot. Eng. Des. Sel.* 17 (2004) 119-126; Gautier, A. et al. *Chem. Biol.* 15 (2008) 128-136, и катализируемое протеазой образование связей С-N используется Bordusa, F., *Highlights in Bioorganic Chemistry* (2004) 389-403). Сайт-специфическая реакция и ковалентное связывание также могут быть достигнуты путем селективной реакции концевых аминокислот с подходящими модифицирующими реагентами.

Реакционную способность N-концевого цистеина с бензонитрилами (см. Ren, H. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 48 (2009) 9658-9662) можно использовать для достижения сайт-специфического ковалентного связывания.

Нативное химическое лигирование может также зависеть от С-концевых остатков цистеина (Taylor, E. Vogel; Imperiali, B, *Nucleic Acids and Molecular Biology* (2009), 22 (*Protein Engineering*), 65-96).

В патенте US 6437095 B1 описан способ конъюгации, который основан на более быстрой реакции цистеина на участке с отрицательно заряженными аминокислотами с цистеином, расположенным на участке с положительно заряженными аминокислотами.

Фрагмент также может представлять собой синтетический пептид или имитатор пептида. В случае, когда полипептид химически синтезирован, во время такого синтеза могут быть включены аминокислоты с ортогональной химической реакционной способностью (см., например, de Graaf, A.J. et al., *Biosconj. Chem.* 20 (2009) 1281-1295). Поскольку речь идет о большом разнообразии ортогональных функциональных групп, которые могут быть введены в синтетический пептид, конъюгирование такого пептида с линкером представляет собой стандартную химию.

Чтобы получить помеченный полипептид, конъюгат со стехиометрией 1:1 можно отделить хроматографией от других побочных продуктов конъюгации. Эту процедуру можно облегчить с использованием красителя, меченого представителем связывающей пары и заряженным линкером. Используя этот вид меченого и сильно отрицательно заряженного представителя связывающей пары, моноконъюгированные полипептиды легко отделяются от немеченых полипептидов и полипептидов, которые несут более одного линкера, поскольку различие в заряде и молекулярной массе можно использовать для разделения. Флуоресцентный краситель может быть применим для очистки комплекса от несвязанных компонентов, таких как меченое одновалентное связующее.

Согласно одному варианту осуществления фрагмент, присоединенный к антителу к ТИМЗ, выбирают из группы, состоящей из связывающего фрагмента, фрагмента мечения и биологически активного фрагмента.

Описанные в настоящем документе антитела к ТИМЗ также могут быть конъюгированы с терапевтическим средством для образования иммуноконъюгата, такого как конъюгат антитела с лекарственным средством (ADC). Подходящие терапевтические средства включают в себя антиметаболиты, алкилирующие средства, связующие вещества для малых бороздок ДНК, интеркаляторы ДНК, ДНК-сшиватели, ингибиторы гистондеацетилазы, ингибиторы ядерного экспорта, ингибиторы протеасом, ингибиторы топоизомеразы I или II, ингибиторы белков теплового шока, ингибиторы тирозинкиназы, антибиотики и антимиотические средства. В ADC антитело и терапевтическое средство предпочтительно конъюгируют через расщепляемый линкер, такой как пептидный, дисульфидный или гидразоновый линкер. Согласно другим вариантам осуществления линкер представляет собой пептидный линкер, такой как Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Pro-Val-Gly-Val-Val (SEQ ID NO: 300), Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Ala-Ala-Asn, Cit-Cit, Val-Lys, Lys, Cit, Ser или Glu. ADC могут быть получены, как описано в патенте США № 7087600; 6989452 и 7129261; публикациях согласно РСТ WO 02/096910; WO 07/038658; WO 07/051081; WO 07/059404; WO 08/083312 и WO 08/103693; патентных публикациях США 20060024317; 20060004081 и 20060247295.

Антитела к ТИМЗ, например, описанные в настоящем документе, также можно использовать для обнаружения ТИМЗ, такого как ТИМЗ человека, например, ТИМЗ человека в тканях или образцах тканей. Антитела могут быть использованы, например, в анализе ELISA или в проточной цитометрии. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к ТИМЗ контактирует с клетками, например, клетками в ткани, в течение времени, подходящего для специфического связывания, и затем добавляют реагент, например, антитело, которое обнаруживает антитело к ТИМЗ. Иллюстративные анализы представлены в примерах. Антитело к ТИМЗ может представлять собой полностью человеческое антитело или оно может представлять собой химерное антитело, такое как антитело, содержащее переменные области человека и константные области мыши или их часть. Иллюстративные способы обнаружения ТИМЗ, например, ТИМЗ человека, в образце (образце клетки или ткани) предусматривают (1) контактирование образца с антителом к ТИМЗ в течение времени, достаточного для обеспечения специфического связывания антитела к ТИМЗ с ТИМЗ в образце и (2) контактирование образца с обнаруживающим реагентом, например, антителом, которое специфически связывается с антителом к ТИМЗ, таким как область Fc антитела к ТИМЗ, чтобы тем самым обнаружить ТИМЗ, связанный антителом к ТИМЗ. Стадии промывки могут быть включены после инкубации с антителом и/или реагентом для обнаружения. Антитела к ТИМЗ для применения в этих способах не обязательно должны быть связаны с меткой или средствами обнаружения, так как можно использовать отдельное средство обнаружения.

Другие применения для антител к ТИМЗ, например, в качестве монотерапии или комбинированной терапии, представлены в другом месте настоящего документа, например, в разделе, относящемся к комбинированному лечению.

XIV. Биспецифические молекулы.

Описанные в настоящем документе антитела к ТИМЗ можно использовать для образования биспецифических молекул. Антитело к ТИМЗ или его антигенсвязывающие части могут быть дериватизированы или связаны с другой функциональной молекулой, например, другим пептидом или белком (например, другим антителом или лигандом для рецептора) для получения биспецифической молекулы, которая связывается по меньшей мере с двумя разными сайтами связывания или молекулами-мишенями. Например, антитело к ТИМЗ может быть связано с антителом или scFv, которое специфически связывается с любым белком, который может быть использован в качестве потенциальных мишеней для комбинированного лечения, таким как описанные в настоящем документе белки (например, антитела к PD-1, PD-L1, GITR или LAG-3). Описанное в настоящем документе антитело может фактически быть получено или связано более чем с одной другой функциональной молекулой для получения мультиспецифических молекул, которые связываются более чем с двумя различными сайтами связывания и/или молекулами-мишенями; такие мультиспецифические молекулы также предназначены для охвата используемым в настоящем документе термином "биспецифическая молекула". Чтобы создать описанную в настоящем документе биспецифическую молекулу, описанное в настоящем документе антитело может быть функционально связано (например, путем химического связывания, генетического слияния, нековалентной ассоциации или иным образом) с одной или несколькими другими связывающими молекулами, такими как другое антитело, фрагмент антитела, пептид или связывающий миметик, так что получается биспецифическая молекула.

Соответственно, в настоящем документе предусмотрены биспецифические молекулы, содержащие по меньшей мере одну первую специфичность связывания для ТИМЗ и вторую специфичность связывания для второго целевого эпитопа. Согласно описанному в настоящем документе варианту осуществления, в котором биспецифическая молекула является мультиспецифической, молекула может дополнительно включать в себя третью специфичность связывания.

Согласно одному варианту осуществления описанные в настоящем документе биспецифические молекулы содержат в качестве специфичности связывания по меньшей мере одно антитело или фрагмент антитела, включая в себя, например, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv или одноцепочечные Fv (scFv). Антитело также может представлять собой димер легкой или тяжелой цепи или любой его минимальный фрагмент, такой как Fv или одноцепочечная конструкция, как описано в патенте США № 4946778, выданном Ladner et al.

Хотя моноклональные антитела человека являются предпочтительными, другие антитела, которые можно использовать в описанных в настоящем документе биспецифических молекулах, представляют собой мышинные, химерные и гуманизированные моноклональные антитела.

Описанные в настоящем документе биспецифические молекулы могут быть получены путем конъюгирования специфичностей связывания компонентов с использованием способов, известных в настоящей области техники. Например, каждая специфичность связывания биспецифической молекулы может быть получена отдельно и затем конъюгирована друг с другом. Когда специфичностями связывания являются белки или пептиды, для ковалентной конъюгации можно использовать различные связывающие или сшивающие средства. Примеры сшивающих средств включают в себя белок А, карбодиимид, N-сукцинимидил-S-ацетилтиоацетат (SATA), 5,5'-дитиобис(2-нитробензойную кислоту) (DTNB), офенилендималеимид (oPDM), N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат (SPDP) и сульфосукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (сульфо-SMCC) (см., например, Karpovsky et al. (1984) J. Exp. Med. 160: 1686; Liu, MA et al. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648). Другие способы

включают в себя способы, описанные в Paulus (1985) Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132; Brennan et al. (1985) Science 229:81-83 и Glennie et al. (1987) J. Immunol. 139: 2367-2375. Некоторыми конъюгирующими средствами являются SATA и сульфид-SMCC, оба доступны от Pierce Chemical Co. (Rockford, IL).

Когда специфичностями связывания являются антитела, они могут быть конъюгированы посредством сульфгидрильной связи С-конца шарнирных областей двух тяжелых цепей. Согласно конкретному варианту осуществления шарнирную область модифицируют так, чтобы она содержала нечетное количество сульфгидрильных остатков, предпочтительно один, до конъюгации.

Альтернативно, обе специфичности связывания могут быть закодированы в одном и том же векторе и экспрессированы и собраны в одной и той же клетке-хозяине. Этот способ особенно применим, когда биспецифическая молекула представляет собой слитый белок mAb×mAb, mAb×Fab, mAb×(scFv)₂, Fab×F(ab')₂ или лиганд×Fab. Биспецифическое антитело может содержать антитело, содержащее scFv на С-конце каждой тяжелой цепи. Описанная в настоящем документе биспецифическая молекула может представлять собой одноцепочечную молекулу, содержащую одноцепочечное антитело и детерминанту связывания, или одноцепочечную биспецифическую молекулу, содержащую две детерминанты связывания. Биспецифические молекулы могут содержать по меньшей мере две одноцепочечные молекулы. Способы получения биспецифических молекул описаны, например, в патенте США № 5260203; патенте США № 5455030; патенте США № 4881175; патенте США № 5132405; патенте США № 5091113; патенте США № 5477786; патенте США № 5013653; патенте США № 5258988 и патенте США № 5482858.

Связывание биспецифических молекул с их специфическими мишенями может быть подтверждено с использованием известных в настоящей области техники способов, таких как ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA), радиоиммуноанализ (RIA), анализ FACS, биоанализ (например, ингибирование роста) или вестерн-блот-анализ. Каждый из этих анализов, как правило, обнаруживает присутствие представляющих особый интерес комплексов белок-антитело с использованием меченого реагента (например, антитела), специфического для представляющего интерес комплекса.

XV. Композиции.

Дополнительно предусмотрены композиции, например, фармацевтические композиции, содержащие одно или комбинацию антител к TIM3 или комбинацию с антителами к другим мишеням, или их антигенсвязывающая часть(и), описанные в настоящем документе, составленные вместе с фармацевтически приемлемым носителем. Такие композиции могут включать в себя одно или комбинацию (например, двух или более разных) антител или иммуноконъюгатов или биспецифических молекул, описанных в настоящем документе. Например, описанная в настоящем документе фармацевтическая композиция может содержать комбинацию антител (или иммуноконъюгатов или биспецифических веществ), которые связываются с различными эпитопами на антигене-мишени или которые обладают комплементарными активностями.

Согласно некоторым вариантам осуществления композиция содержит антитело к TIM3 в концентрации, по меньшей мере 1, 5, 10, 50, 100, 150, 200, 1-300 мг/мл или 100-300 мг/мл.

Описанные в настоящем документе фармацевтические композиции также можно вводить при комбинированном способе лечения, т.е. в комбинации с другими средствами. Например, комбинированный способ лечения может включать в себя описанное в настоящем документе антитело к TIM3 в комбинации по меньшей мере с одним другим противоопухолевым и/или иммуномодулирующим, например, стимулирующим Т-клетки (например, активирующим), средством. Примеры терапевтических средств, которые могут быть использованы в комбинированном способе лечения, более подробно описаны ниже в разделе об использовании описанных в настоящем документе антител к TIM3.

Согласно некоторым вариантам осуществления терапевтические композиции, раскрытые в настоящем документе, могут включать в себя другие соединения, лекарственные средства и/или средства, используемые для лечения рака. Такие соединения, лекарственные средства и/или средства могут включать в себя, например, химиотерапевтические лекарственные средства, низкомолекулярные лекарственные средства или антитела, которые стимулируют иммунный ответ на данный рак. В некоторых случаях терапевтические композиции могут включать в себя, например, одно или несколько из антитела к CTLA-4, антитела к PD-1, антитела к PD-L1, антитела к OX40 (также известного как CD134, TNFRSF4, ACT35 и/или TXGP1L), антитела к CD137, антитела к LAG-3, антитела к GITR или любую их комбинацию.

Используемый в настоящем документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" включает в себя любые и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, изотонические средства и замедляющие абсорбцию средства и т.п., которые являются физиологически совместимыми. Согласно некоторым вариантам осуществления носитель подходит для внутривенного, внутримышечного, подкожного, парентерального, спинального или эпидермального введения (например, путем инъекции или инфузии). В зависимости от пути введения активное вещество, т.е. антитело, иммуноконъюгат или биспецифическая молекула, может быть покрыто материалом, чтобы защитить соединение от действия кислот и других природных условий, которые могут инактивировать соединение.

Описанные в настоящем документе фармацевтические соединения могут включать в себя одну или

несколько фармацевтически приемлемых солей. "Фармацевтически приемлемая соль" относится к соли, которая сохраняет желаемую биологическую активность исходного соединения и не вызывает каких-либо нежелательных токсикологических эффектов (см., например, Berge, S.M., et al. (1977) J. Pharm. Sci. 66: 1-19). Примеры таких солей включают в себя соли присоединения кислоты и соли присоединения основания. Соли присоединения кислоты включают в себя соли, полученные из нетоксичных неорганических кислот, таких как соляная, азотная, фосфорная, серная, бромистоводородная, йодистоводородная, фосфорная и т.п., а также из нетоксичных органических кислот, таких как алифатические моно- и дикарбоновые кислоты, фенилзамещенные алкановые кислоты, гидроксиалкановые кислоты, ароматические кислоты, алифатические и ароматические сульфокислоты и т.п. Соли присоединения оснований включают в себя соли, полученные из таких щелочноземельных металлов, как натрий, калий, магний, кальций и т.п., а также из таких нетоксичных органических аминов, как N,N'-дибензилэтилендиамин, N-метилглюкамин, хлорпрокаин, холин, диэтанолламин, этилендиамин, прокаин и т.п.

Описанная в настоящем документе фармацевтическая композиция также может включать в себя фармацевтически приемлемый антиоксидант. Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают в себя: (1) такие водорастворимые антиоксиданты, как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т.п.; (2) такие жирорастворимые антиоксиданты, как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т.п. и (3) такие хелатирующие металлы средства, как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т.п.

Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые можно использовать в описанных в настоящем документе фармацевтических композициях включают в себя воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, такие как растительные масла, как оливковое масло, и такие инъекционные органические сложные эфиры, как этилолеат. Надлежащая текучесть может поддерживаться, например, путем использования таких материалов для покрытия, как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и путем использования поверхностно-активных веществ.

Эти композиции могут также содержать такие дополнительные вещества, как консерванты, смачивающие средства, эмульгирующие средства и диспергирующие средства. Предотвращение присутствия микроорганизмов может быть обеспечено как процедурами стерилизации, выше, так и включением различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабена, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и т.п. Также может быть желательно включить в композиции такие изотонические средства, как сахара, хлорид натрия и т.п. Кроме того, длительная абсорбция инъекционной фармацевтической формы может быть достигнута за счет включения средств, которые замедляют всасывание, таких как моностеарат алюминия и желатин.

Фармацевтически приемлемые носители включают в себя стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Использование таких сред и средств для фармацевтически активных веществ известно в настоящей области техники. За исключением случаев, когда какой-либо обычный носитель или средство несовместимо с активным соединением, предполагается его применение в описанных в настоящем документе фармацевтических композициях. Фармацевтическая композиция может содержать консервант или может не содержать консервант. Дополнительные активные соединения могут быть включены в композицию.

Терапевтические композиции, как правило, должны быть стерильными и стабильными в условиях производства и хранения. Композиция может быть составлена в виде раствора, микроэмульсии, липосомы или другой упорядоченной структуры, подходящей для высокой концентрации лекарственного средства. Носителем может быть растворитель или дисперсионная среда, содержащая, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси. Надлежащая текучесть может поддерживаться, например, путем использования такого покрытия, как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем использования поверхностно-активных веществ. Во многих случаях композиции могут включать в композицию изотонические средства, например, сахара, такие полиспирты, как маннит, сорбит, или хлорид натрия. Пролонгированная абсорбция инъекционных композиций может быть достигнута включением в композицию средства, которое задерживает абсорбцию, например, солей моностеарата и желатина.

Стерильные растворы для инъекций могут быть приготовлены путем включения активного соединения в необходимом количестве в подходящем растворителе с одним или комбинацией перечисленных выше ингредиентов, по мере необходимости, с последующей стерилизационной микрофильтрацией. Как правило, дисперсии готовят путем включения активного соединения в стерильный наполнитель, который содержит основную дисперсионную среду и требуемые другие ингредиенты из перечисленных в настоящем документе. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций некоторые способы приготовления представляют собой вакуумную сушку и сушку вымораживанием (лиофилизация), которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный же-

лаемый ингредиент из его предварительно стерильно отфильтрованного раствора.

Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом носителя для получения единичной дозированной формы, будет варьировать в зависимости от подвергаемого лечению субъекта и конкретного способа введения. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом носителя для получения единичной дозированной формы, как правило, будет представлять собой такое количество композиции, которое оказывает терапевтический эффект. Как правило, из ста процентов это количество будет составлять от приблизительно 0,01% до приблизительно девяноста девяти процентов активного ингредиента, от приблизительно 0,1% до приблизительно 70% или от приблизительно 1% до приблизительно 30% активного ингредиента в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем.

Схемы дозирования корректируют для обеспечения оптимального желаемого ответа (например, терапевтического ответа). Например, может быть введен один болюс, несколько разделенных доз могут вводиться с течением времени или доза может быть пропорционально уменьшена или увеличена, как указано, в зависимости от терапевтической ситуации. Особенно выгодно составлять парентеральные композиции в единичной дозированной форме для простоты введения и единообразия дозирования. Используемая в настоящем документе единичная лекарственная форма относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для подлежащих лечению субъектов; каждая единица содержит заданное количество активного соединения, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта, в комбинации с необходимым фармацевтическим носителем. Описание стандартных лекарственных форм, описанных в настоящем документе, продиктовано и напрямую зависит от (а) уникальных характеристик активного соединения и конкретного терапевтического эффекта, который должен быть достигнут, и (б) ограничений, присущих в настоящей области приготовления такого активного соединения для лечения чувствительности у индивидуумов.

Для введения антитела к TIM3, например, описанного в настоящем документе, дозировка варьирует в диапазоне от приблизительно 0,0001 до 100 мг/кг и, более обычно, от 0,01 до 5 или 10 мг/кг массы тела хозяина. Например, дозировки могут составлять 0,3 мг/кг массы тела, 1 мг/кг массы тела, 3 мг/кг массы тела, 5 мг/кг массы тела или 10 мг/кг массы тела или в пределах 1-10 мг/кг. Иллюстративная схема лечения предусматривает введение один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые три недели, один раз каждые четыре недели, один раз в месяц, один раз каждые 3 месяца или один раз каждые 3-6 месяцев. Иллюстративные схемы дозирования для описанного в настоящем документе антитела к TIM3 предусматривают 1 мг/кг массы тела или 3 мг/кг массы тела посредством внутривенного введения, при этом антитело вводят с использованием одной из следующих схем дозирования: (i) каждые четыре недели в течение шести дозированных введений, затем каждые три месяца; (ii) каждые три недели; (iii) 3 мг/кг массы тела один раз, затем 1 мг/кг массы тела каждые три недели.

Антитело к TIM3 можно вводить в постоянной дозе (схема постоянной дозы). Согласно другим вариантам осуществления антитело к TIM3 можно вводить в фиксированной дозе с другим антителом. Согласно определенным вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят в дозе, основанной на массе тела.

В некоторых способах два или более моноклональных антитела с различной специфичностью связывания вводят одновременно, и в этом случае дозировка каждого вводимого антитела попадает в указанные диапазоны. Антитело, как правило, вводят несколько раз. Интервалы между однократными дозами могут составлять, например, неделю, месяц, три месяца или год. Интервалы также могут быть нерегулярными, на что указывает измерение содержания антител в крови к антигену-мишени у пациента. В некоторых способах дозировку регулируют до достижения концентрации антител в плазме приблизительно 1-1000 мкг/мл, а в некоторых способах приблизительно 25-300 мкг/мл.

Антитело к TIM3 можно вводить с другим антителом в режиме дозирования другого антитела. Например, антитело к TIM3 можно вводить с антителом к PD-1, таким как ниволумаб (OPDIVO®), каждые две недели в виде внутривенной инфузии в течение 60 мин до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности. Антитело к TIM3 можно вводить с пембролизумабом (KEYTRUDA®) каждые 3 недели в виде внутривенной инфузии в течение 30 мин до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности. Антитело к TIM3 можно вводить с атезолизумабом (TECENTRIQ™) каждые 3 недели в виде внутривенной инфузии в течение 60 или 30 мин до прогрессирования заболевания или неприемлемой токсичности.

Антитело можно вводить в виде состава с замедленным высвобождением, и в этом случае требуется менее частое введение. Дозировка и частота варьируют в зависимости от периода полужизни антитела у пациента. В целом, человеческие антитела показывают самый длинный период полужизни, за которыми следуют гуманизированные антитела, химерные антитела и отличные от человеческих антитела. Дозировка и частота введения могут варьировать в зависимости от того, является ли лечение профилактическим или терапевтическим. При профилактических применениях относительно низкие дозы вводятся с относительно редкими интервалами в течение длительного периода времени. Некоторые пациенты продолжают получать лечение до конца своей жизни. При терапевтических применениях иногда требуется

относительно высокая доза с относительно короткими интервалами, пока прогрессирование заболевания не уменьшится или не прекратится, и пока пациент не покажет частичное или полное улучшение симптомов заболевания. После этого пациенту может быть назначена профилактическая схема.

Фактические уровни дозирования активных ингредиентов в описанных в настоящем документе фармацевтических композициях можно варьировать, чтобы получить количество активного ингредиента, которое эффективно для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, не будучи токсичным для пациента. Выбранный уровень дозирования будет зависеть от множества фармакокинетических факторов, включая в себя активность конкретных описанных в настоящем документе композиций или их сложного эфира, соли или амида, пути введения, времени введения, скорости выведения конкретного соединения, времени применения, продолжительности лечения, других лекарственных средств, соединений и/или материалов, используемые в комбинации с конкретными применяемыми композициями, возраста, пола, массы, состояния, общего состояния здоровья и предыдущей истории болезни подвергаемого лечению пациента и подобных факторов, хорошо известных в медицине.

"Терапевтически эффективная дозировка" описанного в настоящем документе антитела к ТМЗ может приводить к уменьшению выраженности симптомов заболевания, увеличению частоты и продолжительности периодов без симптомов заболевания или предотвращению нарушения или нетрудоспособности вследствие заболевания. В контексте рака терапевтически эффективная доза может приводить к увеличению выживаемости, например, общей выживаемости, и/или предотвращению дальнейшего ухудшения физических симптомов, связанных с раком. Симптомы рака хорошо известны в настоящей области техники и включают в себя, например, необычные признаки родинки, изменение внешнего вида родинки, включая в себя асимметрию, границу, цвет и/или диаметр, вновь пигментированную область кожи, аномальную родинку, затемненную область под ногтем, комочки в груди, изменения сосков, кисты молочной железы, боль в груди, смерть, потерю массы, слабость, чрезмерную усталость, трудности с едой, потерю аппетита, хронический кашель, ухудшение одышки, кашель с кровью, кровь в моче, кровь при дефекации, тошноту, рвоту, метастазы в печени, метастазы в легких, метастазы в костях, полноту в брюшной полости, метеоризм, жидкость в брюшной полости, вагинальное кровотечение, запоры, вздутие живота, перфорацию толстой кишки, острый перитонит (инфекция, лихорадка, боль), боли, рвоту кровью, сильное потоотделение, лихорадку, высокое кровяное давление, анемию, диарею, желтуху, головокружение, озноб, мышечные спазмы, метастазы в толстой кишке, метастазы в легкие, метастазы в мочевой пузырь, метастазы в печень, метастазы в кости, метастазы в почках и метастазы в поджелудочной железе, трудности с глотанием и т.п.

Терапевтически эффективная доза может предотвратить или отсрочить возникновение рака, что может быть желательным, когда присутствуют ранние или предварительные признаки заболевания. Лабораторные исследования, используемые в диагностике рака, включают в себя химию (включая в себя измерение содержания ТМЗ), гематологию, серологию и радиологию. Соответственно, любой клинический или биохимический анализ, который контролирует любое из вышеперечисленного, можно использовать для определения того, является ли конкретное лечение терапевтически эффективной дозой для лечения рака. Специалист в настоящей области техники сможет определить такие количества на основе таких факторов, как размер субъекта, серьезность симптомов субъекта и конкретная композиция или выбранный путь введения.

Описанную в настоящем документе композицию можно вводить одним или несколькими путями введения, используя один или несколько из множества способов, известных в настоящей области техники. Как будет понятно специалисту в настоящей области техники, путь и/или способ введения будет варьировать в зависимости от желаемых результатов. Пути введения описанных в настоящем документе антител к ТМЗ могут включать в себя внутривенный, внутримышечный, внутрикожный, внутрибрюшинный, подкожный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например, посредством инъекции или инфузии. Используемая в настоящем документе фраза "парентеральное введение" означает способы введения, отличные от энтерального и местного введения, как правило, путем инъекции, и включает в себя, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, внутрибрюшинную, транстрахеальную, подкожную, внутрикожную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную, эпидуральную и внутригрудинную инъекцию и инфузию.

Альтернативно, описанное в настоящем документе антитело потенциально может быть введено непарентеральным путем, таким как местный, эпидермальный или слизистый путь введения, например, интраназально, перорально, вагинально, ректально, сублингвально или местно.

Активные соединения могут быть получены с носителями, которые будут защищать соединение от быстрого высвобождения, такими как состав с контролируемым высвобождением, включая в себя имплантаты, трансдермальные пластыри и микрокапсулированные системы доставки. Могут быть использованы биоразлагаемые биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полианигидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфиры и полимолочная кислота. Многие способы получения таких составов запатентованы или общеизвестны специалистам в настоящей области техники. Смотрите,

например, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978.

Терапевтические композиции можно вводить с помощью медицинских устройств, известных в настоящей области техники. Например, согласно конкретному варианту осуществления описанную в настоящем документе терапевтическую композицию можно вводить с помощью устройства для безыгольной подкожной инъекции, такого как устройства, раскрытые в патентах США № 5399163; 5383851; 5312335; 5064413; 4941880; 4790824 или 4596556. Примеры хорошо известных имплантатов и модулей для применения с описанными в настоящем документе антителами к TIM3, включают в себя: патент США № 4487603, в котором раскрыт имплантируемый микроинфузионный насос для дозирования лекарственного средства с контролируемой скоростью; патент США № 4486194, в котором раскрыто терапевтическое устройство для введения лекарственных средств через кожу; патент США № 4447233, в котором раскрыт насос для инфузии лекарственного средства для доставки лекарственного средства с точной скоростью инфузии; патент США № 4447224, в котором раскрыт имплантируемый инфузионный аппарат с переменным потоком для непрерывной доставки лекарственного средства; патент США № 4439196, в котором раскрыта осмотическая система доставки лекарственного средства, имеющая многокамерные отделения, и патент США № 4475196, в котором раскрыта осмотическая система доставки лекарственного средства. Эти патенты включены в настоящий документ посредством ссылки. Многие другие такие имплантаты, системы доставки и модули известны специалистам в настоящей области техники.

Согласно определенным вариантам осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 могут быть составлены для обеспечения надлежащего распределения *in vivo*. Например, гематоэнцефалический барьер (BBB) исключает многие высокогидрофильные соединения. Чтобы гарантировать, что описанные в настоящем документе терапевтические соединения пересекают BBB (если необходимо, например, при раке головного мозга), их можно составлять, например, в липосомах. Относительно способов производства липосом смотрите, например, патенты США № 4522811; 5374548 и 5399331. Липосомы могут содержать одну или несколько групп, которые селективно транспортируются в конкретные клетки или органы, таким образом, улучшая целевую доставку лекарственных средств (см., например, V.V. Ranade (1989) *J. Clin. Pharmacol.* 29:685). Иллюстративные нацеливающие фрагменты включают в себя фолат или биотин (см., например, патент США № 5416016, выданный Low et al.); маннозиды (Umezawa et al. (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153: 1038); антитела (P.G. Bloeman et al. (1995) *FEBS Lett.* 357: 140; M. Owais et al. (1995) *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 180); рецептор белка А сурфактанта (Briscoe et al. (1995) *Am. J. Physiol.* 1233: 134); p120 (Schreier et al. (1994) *J. Biol. Chem.* 269:9090); см. также K. Keinanen; M.L. Laukkanen (1994) *FEBS Lett.* 346: 123; J.J. Killian; I.J. Fidler (1994) *Immunomethods* 4:273.

XVI. Применения и способы.

Описанные в настоящем документе антитела, композиции антител и способы характеризуются многочисленными полезными свойствами *in vitro* и *in vivo*, включая в себя, например, усиление иммунного ответа, например, путем ингибирования (или антагонизма) TIM3 (например, передачи сигналов) или обнаружения TIM3. Согласно одному варианту осуществления описанные в настоящем документе антитела к TIM3 представляют собой антитела человека. Например, описанные в настоящем документе антитела к TIM3 можно вводить в клетки в культуре *in vitro* или *ex vivo* или субъектам-людям, например, *in vivo*, для усиления иммунитета при различных заболеваниях. Соответственно, в настоящем документе представлены способы модификации иммунного ответа у субъекта, предусматривающие введение субъекту описанного в настоящем документе антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, так что иммунный ответ у субъекта является модифицированным. Согласно некоторым вариантам осуществления ответ усиливается, стимулируется или активируется.

Подходящие для настоящих способов субъекты включают в себя пациентов-людей, у которых было бы желательно усиление иммунного ответа. Способы особенно подходят для лечения пациентов-людей, характеризующихся наличием нарушения, которое можно лечить путем усиления иммунного ответа (например, опосредованного Т-клетками иммунного ответа, например, антигенспецифического Т-клеточного ответа). Согласно конкретному варианту осуществления способы особенно подходят для лечения рака *in vivo*. Для достижения антигенспецифического усиления иммунитета описанные в настоящем документе антитела к TIM3 могут вводиться вместе с представляющим интерес антигеном, или антиген уже может присутствовать у подлежащего лечению субъекта (например, субъекта, несущего опухоль или вирус). Когда антитела к TIM3 вводятся вместе с другим средством, оба могут вводиться отдельно или одновременно.

Также охвачены способы обнаружения присутствия антигена TIM3 человека в образце или измерения количества антигена TIM3 человека, предусматривающие контактирование образца и контрольного образца с моноклональным антителом, например, человеческим моноклональным антителом, или его антигенсвязывающей частью, которая специфически связывается с TIM3 человека, в условиях, которые допускают образование комплекса между антителом или его частью и TIM3 человека. Затем обнаруживается образование комплекса, причем разница образования комплекса между образцом по сравнению с контрольным образцом указывает на присутствие антигена TIM3 человека в образце. Кроме того, опи-

санные в настоящем документе антитела к TIM3 можно применять для очистки TIM3 человека с помощью иммуноаффинной очистки.

Учитывая способность описанных в настоящем документе антител к TIM3 стимулировать или костимулировать Т-клеточные ответы, например, антигенспецифические Т-клеточные ответы, такие как ингибирование представленных в настоящем документе негативных эффектов TIM3, в настоящем документе представлены способы *in vitro* и *in vivo* применения описанных в настоящем документе антител к TIM3 для стимуляции, усиления или активации антигенспецифических Т-клеточных ответов, например, противоопухолевых Т-клеточных ответов. Согласно некоторым вариантам осуществления также предусмотрена стимуляция CD3 (например, путем совместной инкубации с клеткой, экспрессирующей мембранный CD3), причем такая стимуляция может быть обеспечена в то же время, до или после стимуляции антителом к TIM3. Например, в настоящем документе представлены способы стимуляции антигенспецифического Т-клеточного ответа, предусматривающие контактирование указанной Т-клетки с описанным в настоящем документе антителом к TIM3 и необязательно с антителом к CD3, так что стимулируется антигенспецифический Т-клеточный ответ.

Любой подходящий индикатор антигенспецифического Т-клеточного ответа можно использовать для измерения антигенспецифического Т-клеточного ответа. Неограничивающие примеры таких подходящих индикаторов включают в себя повышенную пролиферацию Т-клеток в присутствии антитела и/или увеличение производства цитокинов в присутствии антитела. Согласно некоторым вариантам осуществления стимулируется производство интерлейкина-2 и/или интерферона- γ антигенспецифической Т-клеткой.

Т-клетки, которые могут быть усилены или костимулированы антителами к TIM3, включают в себя CD4⁺ Т-клетки и CD8⁺ Т-клетки. Т-клетки могут представлять собой Teff-клетки, например, CD4⁺ Teff-клетки, CD8⁺ Teff-клетки, Т-хелперные (Th) клетки (например, Th1-клетки) или Т-цитотоксические (Tc) клетки.

Дополнительно охватываются способы стимуляции иммунного ответа (например, антигенспецифического Т-клеточного ответа) у субъекта, предусматривающие введение описанного в настоящем документе антитела к TIM3 субъекту, так что стимулируется иммунный ответ (например, антигенспецифический Т-клеточный ответ) у субъекта. Согласно некоторым вариантам осуществления субъект является носителем опухоли, и стимулируется иммунный ответ против опухоли. Опухоль может представлять собой солидную опухоль или жидкую опухоль, например, гематологическое злокачественное образование. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль представляет собой иммуногенную опухоль. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль не является иммуногенной. Согласно определенным вариантам осуществления опухоль является PD-L1-положительной. Согласно некоторым вариантам осуществления опухоль является PD-L1-отрицательной. Субъект также может быть носителем вируса, и стимулируется иммунный ответ против вируса.

Дополнительно предусмотрены способы ингибирования роста опухолевых клеток у субъекта, предусматривающие введение субъекту описанного в настоящем документе антитела к TIM3 таким образом, что рост опухоли у субъекта ингибируется. Также предусмотрены способы лечения вирусной инфекции у субъекта, предусматривающие введение субъекту описанного в настоящем документе антитела к TIM3 таким образом, чтобы вирусная инфекция у субъекта подвергалась лечению.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят субъекту в качестве дополнительного способа лечения. Лечение субъектов, характеризующихся наличием рака, антителом к TIM3 может приводить к пролонгированному выживанию, например, долгосрочному долговременному ответу по сравнению с текущим стандартом оказания медицинской помощи; длительному выживанию в течение по меньшей мере 3, 6, 9 месяцев, 1, 2, 3, 4, 5, 10 или более лет или безрецидивному выживанию в течение по меньшей мере 3, 6, 9 месяцев, 1, 2, 3, 4, 5 или 10 или более лет. Согласно определенным вариантам осуществления лечение субъекта, характеризующегося наличием рака, антителом к TIM3 предотвращает рецидив рака или задерживает рецидив рака, например, на 3, 6, 9 месяцев, 1, 2, 3, 4, 5 или 10 или больше лет. Лечение с помощью антител к TIM3 может использоваться в качестве лечения первой, второй или третьей линии.

Лечение характеризующегося наличием рака субъекта описанным в настоящем документе антителом к TIM3, например, TIM3.18.IgG1, может приводить, например, к стабильному заболеванию, частичному ответу, увеличению общего выживания, увеличению выживания без заболевания или улучшенному выживанию без прогрессирования.

Согласно определенным вариантам осуществления описанное в настоящем документе антитело к TIM3 не является значительно токсичным. Например, антитело к TIM3 не является значительно токсичным для органа человека, например, для одного или нескольких из печени, почки, головного мозга, легких и сердца, как определено, например, в клинических испытаниях. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 не вызывает существенного нежелательного иммунного ответа, например, аутоиммунитета или воспаления.

Согласно некоторым вариантам осуществления лечение субъекта антагонистом к TIM3 (например, описанным в настоящем документе антителом к TIM3) не приводит к чрезмерной стимуляции иммунной

системы до такой степени, что иммунная система субъекта затем атакует самого субъекта (например, аутоиммунный ответ) или приводит, например, к анафилаксии. Таким образом, согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 не вызывают анафилаксии.

Согласно некоторым вариантам осуществления лечение субъекта описанным в настоящем документе антителом к TIM3, например, антителом, содержащим CDR или переменные области 13A3 или его варианта (например, как описано в настоящем документе), или другими описанными в настоящем документе антителами к TIM3, не вызывает значительных воспалительных реакций, например, иммуноопосредованный пневмонит, иммуноопосредованный колит, иммуноопосредованный гепатит, иммуноопосредованный нефрит или почечную дисфункцию, иммуноопосредованный гипопизит, иммуноопосредованный гипотиреоз и гипертиреоз или другие опосредованные нежелательные реакции. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3, содержащее CDR или переменные области 13A3 или их вариант (например, как описано в настоящем документе), вызывает меньше воспалительных реакций, например, иммуноопосредованный пневмонит, иммуноопосредованный колит, иммуноопосредованный гепатит, иммуноопосредованный нефрит или почечную дисфункцию, иммуноопосредованный гипопизит, иммуноопосредованный гипотиреоз и гипертиреоз, анафилаксию или другие иммуноопосредованные нежелательные реакции, чем другие антитела к TIM3. Согласно некоторым вариантам осуществления лечение субъекта описанным в настоящем документе антителом к TIM3, например, антителом, содержащим CDR или переменные области 13A3 или его варианта (например, как описано в настоящем документе), или другими описанными в настоящем документе антителами к TIM3, не вызывает значительных нарушений со стороны сердца, например, желудочковой аритмии; нарушения зрения, например, иридоциклит; инфузионные реакции; увеличенную амилазу, увеличенную липазу; нарушения нервной системы, например, головокружение, периферическую и сенсорную невропатию; заболевания кожи и подкожной клетчатки, например, сыпь, зуд, эксфолиативный дерматит, мультиформную эритему, витилиго или псориаз; респираторные, грудные и средостенные нарушения, например, кашель; усталость; тошноту; снижение аппетита; запор; артралгию или диарею.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 обеспечивает синергетический противоопухолевый эффект в комбинации с другим способом лечения рака, таким как соединение, которое стимулирует иммунную систему (например, иммуноонкологическое средство), например, описанное в настоящем документе соединение или описанное в настоящем документе соединение, модулирующее мишень.

Использование антител человека, в отличие от химерных или гуманизированных антител, может привести к снижению уровня антител к лекарственным средствам (ADA). Соответственно, описанные в настоящем документе антитела к TIM3 человека, например, TIM3.18.IgG1.3, могут характеризоваться более низким ADA по сравнению с антителами к TIM3, которые не представляют собой антитела человека (например, относительно гуманизированных или химерных антител к TIM3).

Эти и другие описанные в настоящем документе способы обсуждаются более подробно ниже.

XVI.A. Рак.

Ингибирование TIM3 антителами к TIM3 может усиливать иммунный ответ на раковые клетки у пациента, характеризующегося наличием рака. В настоящем документе представлены способы лечения субъекта, характеризующегося наличием рака, предусматривающие введение субъекту описанного в настоящем документе антитела к TIM3 таким образом, что субъект подвергается лечению, например, так, что рост злокачественных опухолей ингибируется или уменьшается и/или опухоль регрессирует, и/или что достигается длительное выживание. Антитело к TIM3 можно применять отдельно для ингибирования роста злокачественных опухолей. Альтернативно, антитело к TIM3 можно применять в комбинации с другим средством, например, другим иммуногенным средством, стандартным средством против рака или другим описанным ниже антителом.

Соответственно, в настоящем документе представлены способы лечения рака, например, путем ингибирования роста опухолевых клеток у субъекта, предусматривающие введение субъекту терапевтически эффективного количества описанного в настоящем документе антитела к TIM3, например, TIM3.2, TIM3.4, TIM3.5, TIM3.6, 9F6, 8B9, TIM3.9, TIM3.10, TIM3.11, TIM3.12, TIM3.13, TIM3.14, TIM3.15, TIM3.16, TIM3.17, TIM3.18, TIM3.7 и TIM3.8, содержащего константную область IgG дикого типа или константную область, обладающую сниженной эффекторной функцией, например, IgG1.1 или IgG1.3, или его антигенсвязывающей части. Антитело может представлять собой антитело к TIM3 человека (такое как любое описанное в настоящем документе антитело к TIM3 человека). Виды рака, рост которых можно ингибировать с использованием антител по настоящему изобретению, включают в себя виды рака, которые, как правило, реагируют на иммунотерапию, и те, которые, как правило, не реагируют на иммунотерапию. Виды рака, которые можно лечить, также включает в себя TIM3-положительные типы рака. Рак может представлять собой рак с солидными опухолями или злокачественными новообразованиями крови (жидкие опухоли). Неограничивающие примеры поддающегося лечению рака включают в себя плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (NSCLC), неплоскоклеточный NSCLC, глиому, рак желудочно-кишечного тракта, почечный рак (например, светло-клеточную карциному), рак яичников, рак печени,

колоректальный рак, рак эндометрия, рак почки (например, почечно-клеточную карциному (RCC)), рак простаты (например, гормонорефрактерную аденокарциному простаты), рак щитовидной железы, нейробластома, рак поджелудочной железы, глиобластома (мультиформную глиобластома), рак шейки матки, рак желудка, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки и рак головы и шеи (или карциному), рак желудка, герминогенную опухоль, детскую саркому, синоназальную опухоль, меланому (например, метастатическую злокачественную меланому, такую как кожная или внутриглазная злокачественная меланома), рак костей, рак кожи, рак матки, рак анальной области, рак яичка, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, карциному шейки матки, карциному влагалища, карциному вульвы, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак паразитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак мочеиспускательного канала, рак полового члена, солидные опухоли детского возраста, рак мочеточника, карциному почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухолевый ангиогенез, опухоль позвоночника, рак головного мозга, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, эпидермоидный рак, плоскоклеточный рак, Т-клеточную лимфому, рак, вызванный окружающей средой, включая в себя рак, вызванный асбестом, связанный с вирусом рак или рак вирусного происхождения (например, вирус папилломы человека (HPV)-связанные или происходящие от HPV опухоли)), а также гематологические злокачественные новообразования, происходящие из одной из двух основных линий клеток крови, т.е. линии миелоидных клеток (которая производит гранулоциты, эритроциты, тромбоциты, макрофаги и тучные клетки) или лимфоидной клеточной линии (которая производит В, Т, NK и плазматические клетки), такие как все типы лейкозов, лимфом и миелом, например, острые, хронические, лимфоцитарные и/или миелогенные лейкозы, такие как острый лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML), хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL) и хронический миелогенный лейкоз (CML), недифференцированный AML (МО), миелобластный лейкоз (M1), миелобластный лейкоз (M2; с созреванием клеток), промиелоцитарный лейкоз (M3 или вариант M3 [M3V]), миеломоноцитарный лейкоз (M4 или вариант M4 с эозинофилией [M4E]), моноцитарный лейкоз (M5), эритролейкоз (M6), мегакариобластный лейкоз (M7), выделенная гранулоцитарная саркома и хлорома; лимфомы, такие как лимфома Ходжкина (HL), неходжкинская лимфома (NHL), В-клеточная гематологическая злокачественность, например, В-клеточные лимфомы, Т-клеточные лимфомы, лимфоплазмоцитомидная лимфома, моноцитомидная В-клеточная лимфома (связанная со слизистой лимфоидной тканью (MALT) лимфома, анапластическая (например, Ki 1+) крупноклеточная лимфома, Т-клеточная лимфома/лейкоз взрослого человека, лимфома мантийных клеток, ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома, ангиоцентрическая лимфома, кишечная Т-клеточная лимфома, первичная средостенная В-клеточная лимфома, Т-лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников, Т-лимфобластная и лимфома/лейкоз (T-Lbly/T-ALL), периферическая Т-клеточная лимфома, лимфобластная лимфома, посттрансплантационная лимфопролиферативная патология, истинная гистиоцитарная лимфома, первичная лимфома центральной нервной системы, первичная эффузионная лимфома, лимфома В-клеток, лимфобластная лимфома (LBL), гематопоэтические опухоли лимфоидного происхождения, острый лимфобластный лейкоз, диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, лимфома Беркитта, фолликулярная лимфома, диффузная гистиоцитарная лимфома (DHL), иммунобластная крупноклеточная лимфома, В-лимфобластный лейкоз из клеток-предшественников, кожная Т-клеточная лимфома (CTLC) (также называемая грибовидным микозом или синдромом Сезари) и лимфоплазмоцитомидная лимфома (LPL) с макроглобулинемией Вальденстрема; такие миеломы, как миелома IgG, миелома легких цепей, несекреторная миелома, тлеющая миелома (также называемая индолентной миеломой), солитарная плазмоцитома и множественные миеломы, хронический лимфоцитарный лейкоз (CLL), лимфома ворсистых клеток; гематопоэтические опухоли миелоидного происхождения, опухоли мезенхимального происхождения, включая в себя фибросаркома и рабдомиосаркома; семинома, тератокарцинома, опухоли центральной и периферической нервной системы, включая в себя астроцитому, шванномы; опухоли мезенхимального происхождения, включая в себя фибросаркому, рабдомиосаркому и остеосаркому; и другие опухоли, включая в себя меланому, пигментную ксеродерму, кератоакантому, семиному, фолликулярный рак щитовидной железы и тератокарциному, гематопоэтические опухоли лимфоидной линии, например, Т-клеточные и В-клеточные опухоли, включая в себя, без ограничения, нарушения Т-клеток, такие как Т-клеточный и пролимфоцитарный лейкоз (T-PLL), включая в себя мелкоклеточного и церебриформного типа; большой гранулярный лимфоцитарный лейкоз (LGL) Т-клеточного типа; a/d T-NHL гепатоспленальная лимфома; периферическая/посттимусная Т-клеточная лимфома (плеоморфный и иммунобластный подтипы); ангиоцентрическая (назальная) Т-клеточная лимфома; рак головы или шеи, рак почки, рак прямой кишки, рак щитовидной железы; острая миелоидная лимфома, а также любые комбинации указанных видов рака. Описанные в настоящем документе способы также могут быть использованы для лечения метастатического рака, неоперабельных, резистентных видов рака (например, рака, невосприимчивого к предыдущей иммунотерапии, например, с блокирующим антителом CTLA-4 или PD-1), и/или рецидивирующих видов рака.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят пациентам, характеризующиеся наличием рака, который проявлял неадекватный ответ или прогрессировал при предшествующем лечении, например, предшествующем лечении иммуноонкологическим или иммунотерапевтическим ле-

карственным средством, или пациентам, характеризующимся наличием рака, который является устойчивым или резистентным, либо по своей природе устойчивым либо резистентным (например, резистентным к антагонисту пути PD-1), либо при котором приобретает устойчивое или резистентное состояние. Например, субъектов, которые не реагируют или недостаточно реагируют на первый способ лечения или которые видят прогрессирование заболевания после лечения, например, лечения антителом к PD-1, можно лечить введением антитела к TIM3 отдельно или в комбинации с другим способом лечения (например, анти-PD-1 лечением).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят пациентам, которые ранее не получали (т.е. не подвергались лечению) иммуноонкологическое средство, например, антагонист пути PD-1.

Согласно некоторым вариантам осуществления способ лечения рака у субъекта предусматривает, прежде всего, определение того, является ли субъект положительным по TIM3, например, имеет ли раковые клетки или TIL, которые экспрессируют TIM3, и, если у субъекта есть положительный по TIM3 рак или клетки TIL, затем вводят субъекту антитело к TIM3, например, описанное в настоящем документе. Способ лечения субъекта, характеризующегося наличием рака, антителом к TIM3 может предусматривать введение субъекту, у которого имеются раковые клетки или клетки TIL, которые экспрессируют TIM3, терапевтически эффективного количества антитела к TIM3. В настоящем документе также представлены способы прогнозирования того, будет ли субъект отвечать на лечение антителом к TIM3, при этом способы предусматривают определение уровня TIM3 в раковых клетках или клетках TIL пациента, и если раковые клетки или клетки TIL субъекта представляют собой TIM3-положительные, тогда субъект, будет отвечать на лечение антителом к TIM3.

Согласно определенным вариантам осуществления способ лечения рака у субъекта предусматривает сначала определение того, является ли субъект PD-L1- или PD-1-положительным, например, имеет ли раковые клетки или TIL, которые экспрессируют PD-L1 или PD-1, и, если у субъекта имеются PD-L1- или PD-1-положительные раковые клетки или клетки TIL, то затем вводят субъекту антитело к TIM3 (и, необязательно, антагонист PD-1 или PD-L1), например, описанное в настоящем документе. Способ лечения субъекта, характеризующегося наличием рака, антителом к TIM3 (и необязательно антагонистом PD-1 или PD-L1) может предусматривать введение субъекту, у которого есть раковые клетки или клетки TIL, которые экспрессируют PD-L1 или PD-1, терапевтически эффективного количества антитела к TIM3 (и, возможно, антагониста PD-1 или PD-L1). В настоящем документе также представлены способы прогнозирования того, будет ли субъект отвечать на лечение антителом к TIM3 (и, необязательно, антагонистом PD-1 или PD-L1), причем способы предусматривают определение содержания PD-L1 или PD-1 в раковых или TIL-клетках пациента, и если раковые или TIL-клетки субъекта являются PD-L1- или PD-1-положительными, то субъект, скорее всего, будет отвечать на лечение антителом к TIM3 (и, необязательно, антагонистом PD-1 или PD-1).

Антитело к TIM3 можно вводить при стандартном лечении. Антитело к TIM3 можно вводить в качестве поддерживающего способа лечения, например, способа лечения, предназначенного для предотвращения возникновения или рецидива опухолей.

Антитело к TIM3 можно вводить с другим лечением, например, облучением, хирургическим вмешательством или химиотерапией. Например, дополнительный способ лечения антителом к TIM3 можно назначать, когда существует риск наличия микрометастазов и/или для снижения риска рецидива.

Антитело к TIM3 можно вводить в виде монотерапии или в качестве единственного иммуностимулирующего способа лечения. Антитела к TIM3, например, анти-TIM3, также можно комбинировать с иммуногенным средством, таким как раковые клетки, очищенные опухолевые антигены (включая в себя 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 противоопухолевых вакцин, которые можно использовать, включают в себя пептиды антигенов меланомы, такие как пептиды gp100, антигены MAGE, Trp-2, MART1 и/или тирозиназу, или опухолевые клетки, трансфицированные для экспрессии цитокина GM-CSF (обсуждается далее ниже).

Было показано, что у людей некоторые опухоли являются иммуногенными, такие как меланомы. При снижении порога активации T-клеток посредством ингибирования TIM3 можно активировать опухолевые реакции у хозяина, что позволяет лечить неиммуногенные опухоли или опухоли с ограниченной иммуногенностью.

Антитело к TIM3, например, описанное в настоящем документе антитело к TIM3 можно комбинировать с протоколом вакцинации. Было разработано много экспериментальных стратегий 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; see also Restifo, N. and Sznol, M., *Cancer Vaccines*, Ch. 61, pp. 3023-3043 in DeVita et al. (eds.), 1997, *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, Fifth Edition). В соответствии с одной из этих стратегий, вакцина готовится с использованием аутологических или аллогенных опухолевых клеток. Было показано, что эти клеточные вакцины наиболее эффективны, когда опухолевые клетки трансдуцированы для экспрессии GM-CSF. Было показано,

что GM-CSF представляет собой мощный активатор презентации антигена для противоопухолевой вакцинации (Dranoff et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 90: 3539-43).

Изучение экспрессии генов и широкомасштабных паттернов экспрессии генов в различных опухолях привело к определению так называемых опухолеспецифических антигенов (Rosenberg, S A (1999) Immunity 10: 281-7). Во многих случаях эти опухолеспецифические антигены представляют собой антигены дифференцировки, экспрессируемые в опухолях и в клетке, из которой возникла опухоль, например, антигены меланоцитов gp100, антигены MAGE и Trp-2. Что еще более важно, можно показать, что многие из этих антигенов представляют собой мишени опухолеспецифических Т-клеток, обнаруженных у хозяина. Ингибирование TIM3 можно применять в комбинации с коллекцией рекомбинантных белков и/или пептидов, экспрессируемых в опухоли, для получения иммунного ответа на эти белки. Эти белки, как правило, рассматриваются иммунной системой в качестве собственных антигенов и, следовательно, являются толерантными к ним. Опухолевый антиген может включать в себя белок теломеразу, который необходим для синтеза теломер хромосом и который экспрессируется более чем в 85% случаев рака человека и только в ограниченном количестве соматических тканей (Kim et al. (1994) Science 266): 2011-2013). Опухолевый антиген также может представлять собой "неоантиген", экспрессируемый в раковых клетках из-за соматических мутаций, которые изменяют белковую последовательность или создают слитые белки между двумя несвязанными последовательностями (т.е. bcr-abl в хромосоме Филадельфии) или идиотип из В-клеточных опухолей.

Другие противоопухолевые вакцины могут включать в себя белки вирусов, вовлеченных в виды рака человека, такие как вирусы папилломы человека (HPV), вирусы гепатита (HBV и HCV) и вирус герпеса саркомы Капоши (KHSV). Другая форма опухолевого специфического антигена, которую можно использовать в комбинации с ингибированием TIM3, представляет собой очищенные белки теплового шока (HSP), выделенные из самой опухолевой ткани. Эти белки теплового шока содержат фрагменты белков из опухолевых клеток, и эти HSP очень эффективны при доставке в антигенпрезентирующие клетки для выявления опухолевого иммунитета (Suot&Srivastava (1995) Science 269: 1585-1588; Tamura et al. (1997) Science 278: 117-120).

Дендритные клетки (DC) представляют собой мощные антигенпрезентирующие клетки, которые можно использовать для инициации антигенспецифических ответов. DC могут быть получены *ex vivo* и загружены различными белковыми и пептидными антигенами, а также экстрактами опухолевых клеток (Nestle et al. (1998) Nature Medicine 4: 328-332). DC также могут быть трансдуцированы генетическим путем для экспрессии этих опухолевых антигенов. DC также были слиты непосредственно с опухолевыми клетками для целей иммунизации (Kugler et al. (2000) Nature Medicine 6:332-336). Как способ вакцинации, иммунизация DC может эффективно сочетаться с ингибированием TIM3 для активации более сильных противоопухолевых ответов.

Ингибирование TIM3 также можно сочетать со стандартным лечением рака (например, хирургическим вмешательством, облучением и химиотерапией). Ингибирование TIM3 можно эффективно сочетать с химиотерапевтическими схемами. В этих случаях можно уменьшить дозу вводимого химиотерапевтического реагента (Mokyr et al. (1998) Cancer Research 58: 5301-5304). Примером такой комбинации является антитело к TIM3 в комбинации с декарбазином для лечения меланомы. Другим примером такой комбинации является антитело к TIM3 в комбинации с интерлейкином-2 (IL-2) для лечения меланомы. Научное обоснование совместного применения ингибирования TIM3 и химиотерапии заключается в том, что гибель клеток, которая представляет собой следствие цитотоксического действия большинства химиотерапевтических соединений, должна приводить к повышению уровня опухолевого антигена в пути презентации антигена. Другие комбинированные способы лечения, которые могут привести к синергизму с ингибированием TIM3 через гибель клеток, включают в себя облучение, хирургическое вмешательство и выключение эндокринной функции. Каждый из этих протоколов создает источник опухолевого антигена у хозяина. Ингибиторы ангиогенеза также можно сочетать с ингибированием TIM3. Ингибирование ангиогенеза приводит к гибели опухолевых клеток, которые могут питать опухолевый антиген в пути презентации антигена хозяина.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 также можно использовать в комбинации с биспецифическими антителами, которые нацеливают экспрессирующие рецептор Fc α или Fc γ клетки-эффекторы на опухолевые клетки (см., например, патенты США № 5923845 и 5837243). Биспецифические антитела могут быть использованы для нацеливания на два отдельных антигена. Например, биспецифические антитела к Fc-рецептору/противоопухолевому антигену (например, Her-2/neu) использовали для нацеливания макрофагов на сайты опухоли. Это нацеливание может более эффективно активировать опухолеспецифические ответы. Т-клеточная ветвь этих ответов будет усилена ингибированием TIM3. Альтернативно, антиген может быть доставлен непосредственно к DC с использованием биспецифических антител, которые связываются с опухолевым антигеном и маркером клеточной поверхности, специфическим для дендритных клеток.

Опухоли избегают иммунного надзора хозяина благодаря большому разнообразию механизмов. Многие из этих механизмов могут быть преодолены путем инактивации белков, которые экспрессируют-

ся опухолями и которые являются иммуносупрессивными. К ним относятся, в частности, TGF- β (Kehrl et al. (1986) *J. Exp. Med.* 163: 1037-1050), IL-10 (Howard & O'Garra (1992) *Immunology Today* 13: 198-200) и Fas-лиганд (Hahne et al. (1996) *Science* 274: 1363-1365). Антитела к каждому из этих объектов могут быть использованы в комбинации с антителами к TIM3 для противодействия эффектам иммуносупрессивного средства и стимуляции иммунных реакций опухоли хозяином.

Другие антитела, которые активируют иммунную чувствительность хозяина, можно использовать в комбинации с антителами к TIM3. К ним относятся молекулы на поверхности дендритных клеток, которые активируют функцию DC и презентацию антигена. Антитела к CD40 способны эффективно заменять активность Т-клеточных хелперов (Ridge et al. (1998) *Nature* 393: 474-478) и могут использоваться в комбинации с антителами к TIM3. Активация антител к костимуляторным молекулам Т-клеток, таким как CTLA-4 (например, патент США № 5811907), OX-40 (Weinberg et al. (2000) *Immunol.* 164: 2160-2169), 4-1BB (Melero et al. (1997) *Nature Medicine* 3: 682-685 (1997) и ICOS (Hutloff et al. (1999) *Nature* 397: 262-266) также могут обеспечивать повышенные уровни активации Т-клеток. Ингибиторы PD1 или PD-L1 также могут использоваться в комбинации с антителом к TIM3. Другая комбинация предусмотрена в настоящем документе в другом месте.

В настоящее время трансплантация костного мозга применяется для лечения различных опухолей гематопозитического происхождения. В то время как болезнь трансплантат против хозяина является следствием этого лечения, терапевтическая польза может быть получена из реакции трансплантат против опухоли. Ингибирование TIM3 можно применять для повышения эффективности специфических для донора опухолевых Т-клеток.

Существует также несколько экспериментальных протоколов лечения, которые включают активацию *ex vivo* и размножение антигенспецифических Т-клеток и адоптивный перенос этих клеток реципиентам для стимуляции антигенспецифических Т-клеток против опухоли (Greenberg & Riddell (1999) *Science* 285: 546-51). Эти способы также можно использовать для активации Т-клеточных ответов на инфекционные агенты, такие как CMV. Активация *ex vivo* в присутствии антител к TIM3 может увеличить частоту и активность адоптивно переносимых Т-клеток.

XVI.B. Инфекционные заболевания.

Описанные в настоящем документе способы также могут применяться для лечения пациентов, которые подвергались воздействию определенных токсинов или патогенов. Соответственно, другой описанный в настоящем документе аспект предусматривает способ лечения инфекционного заболевания у субъекта, предусматривающий введение субъекту антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, так что субъект подвергается лечению от инфекционного заболевания. Дополнительно или альтернативно, антитело может представлять собой химерное или гуманизованное антитело.

Подобно его применению к опухолям, как обсуждалось выше, опосредованное антителами ингибирование TIM3 можно использовать отдельно или в качестве дополнительного в комбинации с вакцинами для стимуляции иммунного ответа на патогены, токсины и аутоантигены. Примеры патогенов, для которых этот терапевтический подход может быть особенно применим, включают в себя патогены, для которых в настоящее время нет эффективной вакцины, или патогены, для которых обычные вакцины менее чем полностью эффективны. Они включают в себя, без ограничения, HIV, гепатит (A, B и C), грипп, герпес, лямблиоз, малярию, лейшманию, золотистый стафилококк, синегнойную палочку. Ингибирование TIM3 может быть применимо против установленных инфекций такими средствами, как HIV, которые представляют собой измененные антигены в ходе инфекций. Эти новые эпитопы признаются чужеродными во время введения антител к TIM3 человека, таким образом вызывая сильный Т-клеточный ответ.

Некоторые примеры патогенных вирусов, вызывающих инфекции, которые можно лечить описанными в настоящем документе способами, включают в себя HIV, гепатит (A, B или C), вирус герпеса (например, VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II и CMV, вирус Эпштейна-Бара), аденовирус, вирус гриппа, флавивирусы, эховирус, риновирус, вирус Коксаки, коронавирусы, респираторно-синцитиальный вирус, вирус паротита, ротавирус, вирус кори, вирус краснухи, парвовирус, вирус коровьей оспы, вирус HTLV, вирус денге, вирус папилломы, вирус моллюска, полиовирус, вирус бешенства, вирус JC и вирус арбовирусного энцефалита.

Некоторые примеры патогенных бактерий, вызывающие инфекции, которые можно лечить описанными в настоящем документе способами, включают в себя хламидиоз, риккетсиозную бактерию, микобактерию, стафилококк, стрептококк, пневмококк, менингококк и гонококк, клебсиеллу, протейя, серратию, синегнойную палочку, легионеллу, дифтерию, сальмонеллу, микобактерию, холеру, столбняк, ботулизм, сибирскую язву, чуму, лептоспироз и бактерии болезни Лайма.

Некоторые примеры патогенных грибов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению описанными в настоящем документе способами, включают в себя *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis* и т.д.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger* и т.д.), род *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* и *Histoplasma capsulatum*.

Некоторые примеры патогенных паразитов, вызывающих инфекции, поддающиеся лечению описанными в настоящем документе способами, включают в себя *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*.

Во всех вышеуказанных способах ингибирование TIM3 может сочетаться с другими формами иммунотерапии, например, описанными в настоящем документе, такими как лечение цитокинами (например, интерферонами, GM-CSF, G-CSF, IL-2) или способ лечения биспецифическими антителами, который обеспечивает улучшенную презентацию опухолевых антигенов (см., например, Holliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448; Poljak (1994) Structure 2: 1121-1123).

XVI. С. Аутоиммунные реакции.

Антитела к TIM3 могут провоцировать и усиливать аутоиммунные ответы. Действительно, индукция противоопухолевых ответов с использованием опухолевых и пептидных вакцин показывает, что многие противоопухолевые ответы включают в себя аутоиммунную реактивность (van Elsas et al. (2001) J. Exp. Med. 194:481-489; Overwijk, et al. (1999); Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96: 2982-2987; Hurwitz, (2000), выше; Rosenberg & White (1996) J. Immunother Emphasis Tumor Immunol 19(1):81-4). Следовательно, возможно рассмотреть применение антител к TIM3 в комбинации с различными собственными белками для разработки протоколов вакцинации для эффективного получения иммунных ответов против этих собственных белков для лечения заболевания. Например, болезнь Альцгеймера включает в себя несоответствующее накопление пептида A β в амилоидных отложениях в головном мозге; ответы антител против амилоида способны очищать эти отложения амилоида (Schenk et al., (1999) Nature 400: 173-177).

Другие собственные белки также могут быть использованы в качестве мишеней, таких как IgE для лечения аллергии и астмы и TNF- α для ревматоидного артрита. Наконец, ответы антител на различные гормоны могут быть вызваны применением антител к TIM3. Нейтрализующие ответы антител на репродуктивные гормоны могут быть использованы для контрацепции. Нейтрализующий ответ антител на гормоны и другие растворимые факторы, которые необходимы для роста определенных опухолей, также можно рассматривать как возможные мишени вакцинации.

Аналогичные способы, которые описаны выше для применения антител к TIM3, можно применять для индукции терапевтических аутоиммунных ответов для лечения пациентов, характеризующихся неадекватным накоплением других аутоантигенов, таких как отложения амилоида, включая в себя A β при болезни Альцгеймера, такие цитокины, как TNF- α и IgE.

XVI.D. Вакцины.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 можно применять для стимуляции антигенспецифических иммунных ответов путем совместного введения антитела к TIM3 с представляющим интерес антигеном (например, вакциной). Соответственно, в настоящем документе предусмотрены способы усиления иммунного ответа на антиген у субъекта, предусматривающие введение субъекту: (i) антигена и (ii) антитела к TIM3 или его антигенсвязывающей части, так что иммунный ответ на антиген у субъекта усиливается. Антитело может представлять собой человеческое антитело к TIM3 человека (такое как любое из описанных в настоящем документе человеческих антител к TIM3). Дополнительно или альтернативно, антитело может представлять собой химерное или гуманизированное антитело. Антигеном может быть, например, опухолевый антиген, вирусный антиген, бактериальный антиген или антиген из патогена. Неограничивающие примеры таких антигенов включают в себя те, которые обсуждались в разделах выше, такие как опухолевые антигены (или опухолевые вакцины), обсуждаемые выше, или антигены из вирусов, бактерий или других патогенов, описанных выше.

Согласно некоторым вариантам осуществления пептид или слитый белок, содержащий эпитоп, с которым связывается антитело к TIM3, используют в качестве вакцины вместо антитела к TIM3 или в дополнение к нему.

Подходящие пути введения композиций антител (например, человеческих моноклональных антител, мультиспецифических и биспецифических молекул и иммуноконъюгатов), описанных в настоящем документе, *in vivo* и *in vitro*, хорошо известны в настоящей области техники и могут быть выбраны специалистами в настоящей области техники. Например, композиции антител можно вводить посредством инъекции (например, внутривенно или подкожно). Подходящие дозировки используемых молекул будут зависеть от возраста и массы субъекта, а также от концентрации и/или состава композиции антител.

Как описано ранее, описанные в настоящем документе антитела к TIM3 можно вводить совместно с одним или другими несколькими терапевтическими средствами, например, цитотоксическим средством, радиотоксическим средством или иммунодепрессантом. Антитело может быть связано со средством (в виде иммунокомплекса) или может быть введено отдельно от средства. В последнем случае (раздельное введение) антитело может вводиться до, после или одновременно со средством или может применяться совместно с другими известными способами лечения, например, противораковым способом лечения, например облучением. Такие терапевтические средства включают в себя, среди прочего, противоопухолевые средства, такие как доксорубин (адриамицин), цисплатин, блеомицин сульфат, кармустин, хлорамбуцил, дакарбазин и циклофосфамид гидроксимочевина, которые сами по себе эффективны только на уровнях, которые являются токсичными или субтоксичными для пациента. Цисплатин вводят внутри-

венно в дозе 100 мг/мл один раз каждые четыре недели, а адриамицин вводят внутривенно в дозе 60-75 мг/мл один раз каждый 21 день. Совместное введение описанных в настоящем документе антител к TIM3 или их антигенсвязывающих фрагментов с химиотерапевтическими средствами обеспечивает два противоопухолевых средства, которые действуют посредством различных механизмов, которые оказывают цитотоксическое действие на опухолевые клетки человека. Такое совместное введение может решить проблемы, связанные с развитием резистентности к лекарствам или изменением антигенности опухолевых клеток, что делает их неактивными с антителом.

Также в описанном в настоящем документе объеме находятся наборы, содержащие описанные в настоящем документе композиции антител (например, человеческие антитела, биспецифические или мультиспецифические молекулы или иммуноконъюгаты) и инструкции по применению. Набор может дополнительно содержать по меньшей мере один дополнительный реагент или одно или несколько дополнительных описанных в настоящем документе антител к TIM3 человека (например, антитело человека, обладающее комплементарной активностью, которое связывается с эпитопом в антигене TIM3, отличным от первого антитела человека). Наборы, как правило, включают в себя этикетку, указывающую на предполагаемое применение содержимого набора. Термин "этикетка" включает в себя любые письменные или записанные материалы, поставляемые на наборе или вместе с ним, или иным образом сопровождающие набор.

XVI.E. Комбинированные способы лечения.

В дополнение к представленным выше комбинированным способам лечения антитела к TIM3, например, те, которые описаны в настоящем документе, также могут применяться в комбинированном способе лечения, например, для лечения рака, как описано ниже.

В настоящем документе предусмотрены способы комбинированного способа лечения, при которых антитело к TIM3 вводят совместно с одним или несколькими дополнительными средствами, например, с низкомолекулярными лекарственными средствами, антителами или их антигенсвязывающими частями, которые эффективны в стимуляции иммунных реакций, чтобы тем самым дополнительно усиливать, стимулировать или активировать иммунные ответы у субъекта.

Как правило, антитело к TIM3, например, описанное в настоящем документе, можно комбинировать с (i) агонистом стимулирующей (например, костимулирующей) молекулы (например, рецептора или лиганда) и/или (ii) антагонистом ингибирующего сигнала или молекулы (например, рецептора или лиганда) на иммунных клетках, таких как Т-клетки, оба из которых приводят к усилению иммунных ответов, таких как антигенспецифические ответы Т-клеток. Согласно определенным аспектам иммуноонкологическое средство представляет собой (i) агонист стимулирующей (включая костимулирующую) молекулы (например, рецептора или лиганда) или (ii) антагонист ингибирующей (включая коингибирующую) молекулы (например, рецептора или лиганда) на клетках, например, тех, которые ингибируют активацию Т-клеток, или тех, которые участвуют во врожденном иммунитете, например, NK-клетки, и причем иммуноонкологическое средство усиливает врожденный иммунитет. Такие иммуноонкологические средства часто называют регуляторами иммунной контрольной точки, например, ингибитором иммунной контрольной точки или стимулятором иммунной контрольной точки.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят со средством, которое нацелено воздействует на стимулирующую или ингибирующую молекулу, которая является представителем суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF). Например, антитела к TIM3, например, описанные в настоящем документе, могут быть введены субъекту с помощью средства, которое нацелено воздействует на представителя семейства IgSF для усиления иммунного ответа. Например, антитело к TIM3 можно вводить со средством, которое нацелено воздействует (или специфически связывается) на представителя семейства мембраносвязанных лигандов B7, который включает в себя B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и B7-H6 или костимулирующий или коингибирующий рецептор или специфическое связывание лиганда с представителем семейства B7.

Антитело к TIM3 можно также вводить со средством, которое нацелено воздействует на представителя семейства молекул TNF и TNFR (лиганды или рецепторы), такого как CD40 и CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137, TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn 14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LTpR, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDA1, EDA2, TNFR1, лимфотоксин α /TNFp, TNFR2, TNFa, LTpR, лимфотоксин α 1 β 2, FAS, FASL, RELT, TROY и NGFR (см., например, Tansey (2009) Drug Discovery Today 00:1).

Ответы Т-клеток могут стимулироваться комбинацией антител к TIM3, имеющих переменные области, например, TIM3.2, TIM3.4, TIM3.5, TIM3.6, 9F6, 8B9, TIM3.9, TIM3.10, TIM3.11, TIM3.12, TIM3.13, TIM3.14, TIM3.15, TIM3.16, TIM3.16, TIM3.17, TIM3.18, TIM3.7 и TIM3.8 и одним или несколькими из следующих средств:

(1) Антагонист (ингибитор или блокирующее средство) белка, который ингибирует активацию Т-клеток (например, ингибиторы иммунной контрольной точки), такой как CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, GITR и LAG-3, галектин 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, галектин-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 и TIM-4; и/или

(2) Агонист белка, который стимулирует активацию Т-клеток, такой как B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, DR3 и CD28H.

Иллюстративные средства, которые модулируют один из вышеуказанных белков и могут быть объединены с антителами к TIM3, например, описанными в настоящем документе, для лечения рака, включают в себя: YERVOY® (ипилимумаб) или тремелимумаб (для CTLA-4), галиксимаб (для B7.1), BMS-936558 (для PD-1), MK-3475 (для PD-1), атезолизумаб (TECENTRIQ®), AMP224 (для B7DC), BMS-936559 (для B7-H1), MPDL3280A (для B7-H1), MEDI-570 (для ICOS), AMG557 (для B7H2), MGA271 (для B7H3), IMP321 (для LAG-3), BMS-663513 (для CD137), PF-05082566 (для CD137), CDX-1127 (для CD27), анти-OX40 (Providence Health Services), huMAbOX40L (для OX40L), атацицепт (для TACI), CP-870893 (для CD40), лукатумумаб (для CD40), дацетузумаб (для CD40), муромонаб-CD3 (для CD3); антитела к GITRMK4166, TRX518, Medil873, INBRX-110, LK2-145, GWN-323, GITRL-Fc или любую их комбинацию.

Другие молекулы, которые можно комбинировать с антителами к TIM3 для лечения рака, включают в себя антагонистов ингибирующих рецепторов на NK-клетках или агонистов активирующих рецепторов на NK-клетках. Например, антитела к TIM3 можно комбинировать с антагонистами KIR (например, лирилумабом).

Активация Т-клеток также регулируется растворимыми цитокинами, и антитела к TIM3 могут вводиться субъекту, например, характеризующемуся наличием рака, с антагонистами цитокинов, которые ингибируют активацию Т-клеток, или агонистами цитокинов, которые стимулируют активацию Т-клеток.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитела к TIM3 можно использовать в комбинации с (i) антагонистами (или ингибиторами или блокирующими средствами) белков семейства IgSF или семейства B7, или семейства TNF, которые ингибируют активацию Т-клеток, или антагонистов цитокинов, которые ингибируют активацию Т-клеток (например, IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF; "иммуносупрессивные цитокины") и/или (ii) агонистами стимулирующих рецепторов семейства IgSF, семейства B7 или семейства TNF, или цитокинов, которые стимулируют активацию Т-клеток, для стимуляции иммунного ответа, например, для лечения пролиферативных заболеваний, таких как рак.

Еще одни средства для комбинированных способов лечения включают в себя средства, которые ингибируют или истощают макрофаги или моноциты, включая в себя, без ограничения, антагонисты CSF-1R, такие как антитела-антагонисты CSF-1R, включая в себя RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO01/87699, WO01/119716, WO13/132044) или FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357).

Антитела к TIM3 также можно вводить со средствами, которые ингибируют передачу сигналов TGF-β.

Дополнительные средства, которые можно комбинировать с антителом к TIM3, включают в себя средства, которые усиливают презентацию опухолевого антигена, например, вакцины на дендритных клетках, клеточные вакцины, секретирующие GM-CSF, олигонуклеотиды CpG и имиквимод, или способы лечения, которые усиливают иммуногенность опухолевых клеток (например, антрациклины).

Еще другие способы лечения, которые можно комбинировать с антителом к TIM3, включают в себя способы лечения, которые истощают или блокируют клетки Treg, например, средство, которое специфически связывается с CD25.

Другой способ лечения, который можно комбинировать с антителом к TIM3, представляет собой способ лечения, который ингибирует метаболический фермент, такой как индоламиндиоксигеназа (IDO), диоксигеназа, аргиназа или сингетазы оксида азота.

Другой класс средств, которые можно применять с антителом к TIM3, включает в себя средства, которые ингибируют образование аденозина, например, ингибиторы CD73, или ингибируют рецептор аденозинового A2A.

Другие способы лечения, которые можно комбинировать с антителом к TIM3 для лечения рака, включают в себя способы лечения, которые обращают вспять/предотвращают анергию или истощение Т-клеток, и способы лечения, которые запускают врожденную иммунную активацию и/или воспаление в месте опухоли.

Другие способы лечения, которые можно комбинировать с антителом к TIM3 для лечения рака, включают в себя способы лечения, которые блокируют IL-8, например, HuMax-IL8.

Антитело к TIM3 можно комбинировать более чем с одним иммуноонкологическим средством и можно, например, комбинировать с комбинаторным подходом, который нацелен на множественные элементы иммунного пути, такие как один или несколько из следующих: способ лечения, который усиливает презентацию опухолевого антигена (например, вакцина из дендритных клеток, клеточные вакцины, секретирующие GM-CSF, олигонуклеотиды CpG, имиквимод); способ лечения, который ингибирует отрицательную иммунную регуляцию, например, путем ингибирования пути CTLA-4 и/или PD1/PD-L1/PD-L2 и/или истощения или блокирования Treg или других иммуносупрессирующих клеток; способ лечения, который стимулирует положительную иммунную регуляцию, например, агонистами, которые стимули-

руют путь CD-137, OX-40 и/или CD40 или GITR и/или стимулируют эффекторную функцию Т-клеток; способ лечения, который системно увеличивает частоту противоопухолевых Т-клеток; способ лечения, который истощает или ингибирует Treg, такие как Treg в опухоли, например, с использованием антагониста CD25 (например, даклизумаба) или из-за истощения анти-CD25 гранул *ex vivo*; способ лечения, который влияет на функцию супрессорных миелоидных клеток в опухоли; способ лечения, который усиливает иммуногенность опухолевых клеток (например, антрациклинов); адоптивный перенос Т-клеток или НК-клеток, включая в себя генетически модифицированные клетки, например, клетки, модифицированные химерными антигенными рецепторами (способ лечения CAR-T); способ лечения, который ингибирует метаболический фермент, такой как индоламиндиоксигеназу (IDO), диоксигеназу, аргиназу или синтетазу оксида азота; способ лечения, который устраняет/предотвращает анергию или истощение Т-клеток; способ лечения, который запускает врожденную иммунную активацию и/или воспаление в месте опухоли; введение иммуностимулирующих цитокинов или блокирование иммуносупрессивных цитокинов.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 можно применять вместе с одним или несколькими агонистическими средствами, которые лигируют позитивные костимулирующие рецепторы, блокирующими средствами, которые ослабляют передачу сигналов через ингибирующие рецепторы, антагонистами и одним или несколькими средствами, которые системно увеличивают частоту противоопухолевых Т-клеток, средствами, которые преодолевают различные иммуносупрессивные пути в микроокружении опухоли (например, блокируют вовлечение ингибирующего рецептора (например, взаимодействия PD-L1/PD-1), истощают или ингибируют Treg (например, используя моноклональное антитело к CD25 (например, даклизумаб (или путем истощения анти-CD25 гранул), ингибируют метаболические ферменты, такие как IDO, или обращают вспять/предотвращают анергию или истощение Т-клеток), и средствами, которые запускают активацию врожденного иммунитета и/или воспаление в местах опухоли.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят субъекту вместе с ингибитором BRAF, если субъект является положительным в отношении мутации BRAF V600.

Подходящие антагонисты PD-1 для применения в описанном в настоящем документе комбинированном способе лечения включают в себя, без ограничения, лиганды, антитела (например, моноклональные антитела и биспецифические антитела) и поливалентные средства. Согласно одному варианту осуществления антагонист PD-1 представляет собой слитый белок, например, слитый белок Fc, такой как AMP-244. Согласно одному варианту осуществления антагонист PD-1 представляет собой антитело к PD-1 или к PD-L1.

Иллюстративное антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб (BMS-936558) или антитело, которое содержит CDR или переменные области одного из антител 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 и 4A11, описанных в WO 2006/121168. Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-1 представляет собой МК-3475 (ламбролизумаб), описанное в WO2012/145493; AMP-514, описанное в WO 2012/145493, или PDROO1. Другие известные антитела к PD-1 и другие ингибиторы PD-1 включают в себя те, которые описаны в WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, патентах США № 7635757 и 8217149 и патентной публикации США № 2009/0317368. Любое из антител к PD-1, раскрытых в WO2013/173223, также может быть использовано. Антитело к PD-1, которое конкурирует за связывание и/или связывается с тем же эпитопом на PD-1, что и одно из этих антител, также можно применять в комбинированных способах лечения.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к PD-L1, применимое для комбинированного способа лечения, представляет собой BMS-936559 (обозначается как 12A4 в WO 2007/005874 и патенте США № 7943743) или антитело, которое содержит CDR или переменные области 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 и 13G4, которые описаны в публикации PCT WO 07/005874 и патенте США № 7943743. Согласно определенному варианту осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MEDI4736 (также известное как дурвалумаб и к B7-H1), MPDL3280A (также известное как атезолизумаб и RG7446), MSB0010718C (также известное как авелумаб; WO2013/79174) или HgM12B7. Любые из антител к PD-L1, раскрытые в WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, патентах США № 7635757 и 8217149 и публикации США № 2009/145493, также могут быть использованы. Антитела к PD-L1, которые конкурируют и/или связываются с тем же эпитопом, что и любое из этих антител, также можно применять в комбинированных способах лечения.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 по настоящему раскрытию может применяться с антагонистом CTLA-4, например, антителом к CTLA-4. Согласно одному варианту осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой антитело, выбранное из группы: YERVOY® (ипилимумаб или антитело 10D1, описанное в публикации PCT WO 01/14424), тремелимумаб (ранее тицилимумаб, CP-675206), моноклональное антитело или анти-CTLA-4, описанное в любой из следующих публикаций: WO 98/42752; WO 00/37504; патент США № 6207156; Hurwitz et al. (1998) Pro. Natl. Acad. Sci. USA 95(17): 10067-10071; Samachoe et al. (2004) J. Clin. Oncology 22(145): Abstract No. 2505 (антитело CP-675206); и Mokyr et al. (1998) Cancer Res. 58:5301-5304. Любое из антител к CTLA-4, раскрытое в WO2013/173223, также может применяться.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к TIM3 по настоящему раскрытию применяется в комбинации с антагонистом LAG3. Примеры антител к LAG3 включают в себя антитела, содержащие CDR или переменные области антител 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 или 17E5, которые описаны в патентных публикациях США № US2011/0150892, WO10/19570 и WO2014/008218. Согласно одному варианту осуществления антитело к LAG-3 представляет собой BMS-986016. Другие известные в настоящей области техники антитела к LAG-3, которые можно применять, включают в себя IMP731 и IMP-321, описанные в US 2011/007023, WO08/132601 и WO09/44273.

Антитела к LAG-3, которые конкурируют и/или связываются с тем же эпитопом, что и любое из этих антител, также можно применять в комбинированных способах лечения.

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 по настоящему раскрытию может быть введено в комбинации с агонистом CD137 (4-1BB), таким как агонистическое антитело к CD137. Подходящие антитела к CD137 включают в себя, например, урелумаб или PP-05082566 (WO12/32433).

Согласно другим вариантам осуществления антитело к TIM3 можно вводить в комбинации с агонистом OX40, таким как агонистическое антитело OX40. Подходящие антитела к OX40 включают в себя, например, MEDI-6383, MEDI-6469 или MOXR0916 (RG7888; WO06/029879).

Согласно одному варианту осуществления антитело к TIM3 вводят в комбинации с агонистом CD40, таким как агонистическое антитело к CD40. Согласно некоторым вариантам осуществления иммуноонкологическое средство представляет собой антагонист CD40, такой как антагонистическое антитело к CD40. Подходящие антитела к CD40 включают в себя, например, лукатумумаб (HCD122), дацетумумаб (SGN-40), CP-870893 или Chi Lob 7/4.

Согласно одному варианту осуществления антитело к TIM3 вводят в комбинации с агонистом CD27, таким как агонистическое антитело к CD27. Подходящие антитела к CD27 включают в себя, например, варлиумаб (CDX-1127).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят вместе с антителом к GITR, например, антителом, характеризующимся последовательностями CDR 6C8, например, гуманизированным антителом, содержащим CDR 6C8, как описано, например, в WO2006/105021; антителом, содержащим CDR антитела к GITR, описанного в WO 2011/028683; антителом, содержащим CDR антитела к GITR, описанного в JP2008278814, антителом, содержащим CDR антитела к GITR, описанного в WO2015/031667, WO2015/187835, WO2015/184099, WO2016/054638, WO2016/057841 или WO2016/057846 или другого антитела к GITR, описанного или указанного в настоящем документе.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят в комбинации с MGA271 (до B7H3) (WO11/109400).

Согласно некоторым вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят в комбинации с антагонистом KIR, таким как лириумаб.

Согласно другим вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят в комбинации с антагонистом IDO. Подходящие антагонисты IDO включают в себя, например, INCB-024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), индоксимоб, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) или F001287.

Согласно еще другим вариантам осуществления антитело к TIM3 вводят в комбинации с агонистом Toll-подобного рецептора, например, агонистом TLR2/4 (например, бацилла Кальмета-Герена); агонистом TLR7 (например, хилтонол или имиквимод); агонистом TLR7/8 (например, резиквимод) или агонистом TLR9 (например, CpG7909).

Согласно одному варианту осуществления анти-TIM3 вводят в комбинации с ингибитором TGF- β , например, GC1008, LY2157299, TEW7197 или IMC-TR1.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 и комбинированные способы лечения также могут применяться в комбинации с другими хорошо известными способами лечения, которые выбирают с учетом их особой полезности против показаний, подвергаемых лечению (например, рака). Комбинации описанных в настоящем документе антител к TIM3 можно использовать последовательно с известным фармацевтически приемлемым средством(ами).

Например, описанные в настоящем документе антитела к TIM3 и комбинированные способы лечения могут применяться в комбинации (например, одновременно или отдельно) с дополнительным лечением, таким как облучение и/или химиотерапия, например, с использованием камптотецина (CPT-11), 5-фторурацила (5-FU), цисплатина, доксорубина, иринотекана, паклитаксела, гемцитабина, цисплатина, паклитаксела, карбоплатин-паклитаксела (таксол), доксорубина или камптотецина + apo21/TRAIL (6X combo), одним или несколькими ингибиторами протеасом (например, бортезомиб или MG132), одним или несколькими ингибиторами Bcl-2 (например, BH3I-2' (ингибитор bcl-xl), ингибитором индолемина диоксигеназы-1 (например, INCB24360, индоксимод, NLG-919 или F001287), AT-101 (производное R-(-)-госсиопола), АВТ-263 (малая молекула), GX-15-070 (обатоклакс) или MCL-1 (антагонисты белка-1 дифференцировки клеток миелоидного лейкоза), iAP (ингибитор белка апоптоза) (например, smac7, smac4, низкомолекулярные миметики smac, синтетические пептиды smac (см. Fuldae et al., Nat Med 2002;8:808-15), ISIS23722 (LY2181308) или AEG-35156 (GEM-640)), ингибиторами HDAC (гистондеацетилаза), антителами к CD20 (например, ритуксимаб), ингибиторами ангиогенеза (например, бевацизумаб), антиан-

гиогенными средствами, нацеленными на VEGF и VEGFR (например, авастин), синтетическими тритерпеноидами (см. Hye et al., *Cancer Research* 2005; 65:4799-808), модуляторами c-FLIP (клеточного ингибирующего белка FLICE) (например, природные и синтетические лиганды PPAR γ (активируемый пролифератором пероксисом рецептор γ), 5809354 или 5569100), ингибиторами киназы (например, сорафениб), трастузумабом, цетуксимабом, темсиролимусом, такими ингибиторами mTOR, как рапамицин и темсиролимус, бортезомибом, ингибиторами JAK2, ингибиторами HSP90, ингибиторами PI3K-AKT, леналидомидом, ингибиторами GSK3P, ингибиторами IAP и/или генотоксичными лекарственными средствами.

Описанные в настоящем документе антитела к TIM3 и комбинированные способы лечения могут дополнительно применяться в комбинации с одним или несколькими антипролиферативными цитотоксическими средствами. Классы соединений, которые могут применяться в качестве антипролиферативных цитотоксических средств, включают в себя, без ограничения, следующие.

Алкилирующие средства (включая в себя, без ограничения, азотистый иприт, производные этиленмина, алкилсульфонаты, нитрозомочевины и триазены): урациловый иприт, хлорметин, циклофосфамид (CYTOXAN®), фосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, пипоброман, триэтиленмеламин, триэтилендиотфосфорамин, бусульфид, кармустин, ломустин, стрептозоцин, дакарбазин и темозоломид.

Антиметаболиты (включая в себя, без ограничения, антагонисты фолиевой кислоты, аналоги пиридина, аналоги пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы): метотрексат, 5-фторурацил, флоксурин, цитарабин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, флударабин фосфат, пентостатин и гемцитабин.

Подходящие антипролиферативные средства для комбинирования с антителами к TIM3, без ограничения, таксаны, паклитаксел (паклитаксел коммерчески доступен в виде TAXOL™), доцетаксел, дискодермолид (DDM), диктиостатин (DCT), пелорусид А, эпотилоны, эпотилон А, эпотилон В, эпотилон С, эпотилон D, эпотилон Е, эпотилон F, фураноэпотилон D, дезоксиэпотилон В1, [17]-дегидродезоксипотилон В, [18]дегидродезоксипотилоны В, С12,13-циклопропил-эпотилдозиотилон А, С6-С8 мостиковый эпотилон А, транс-9,10-дегидроэпотилон D, цис-9,10-дегидроэпотилон D, 16-десметилэпотилон В, эпотилон В10, дискодермолид, патупилон (ЕРО-906), КОS-862, КОS-1584, ЗК-ЕРО, АВJ-789, ХАА296А (дискодермолид), TZT-1027 (соблидотин), ILX-651 (тасидотин гидрохлорид), галихондрин В, мезилат эрибулина (Е-7389), гемиастерлин (НТИ-286), Е-7974, Суртофисин, LY-355703, иммуноконъюгаты майтансиноидов (DM-1), МКС-1, АВТ-751, Т1-38067, Т-900607, SB-715992 (испинециб), SB-743921, МК-0731, STA-5312, элеутеробин, 17-бета-ацетокси-2-этокси-6-оксо-В-гомоэстра-1,2,5(10)-триен-3-ол, циклострептин, изолаулималид, лаулималид, 4-эпи-7-дегидрокси-14,16-дидеметил-(+)-дискодермолиды и криптитолон 1 в дополнение к другим стабилизирующим микротубулин средствам, известным в настоящей области техники.

В тех случаях, когда желательно получить aberrantly пролиферативные клетки, находящиеся в состоянии покоя в комбинации с лечением или до лечения описанными в настоящем документе антителами к TIM3, пациенту также могут вводиться гормоны и стероиды (включая в себя синтетические аналоги), такие как 17 α -этинилэстрадиол, диэтилстилбестрол, тестостерон, преднизон, флуоксиместерон, дромостанолон пропионат, тестолактон, мегестролацетат, метилпреднизолон, метилтестостерон, преднизолон, тиамцинолон, хлортрианизен, гидроксипрогестерон, аминоклутетимид, эстрамустин, медроксипрогестеронацетат, лейпролид, флутамид, торемифен, ZOLADEX®. При применении описанных в настоящем документе способов или композиций другие средства, используемые для модуляции роста опухоли или метастворения в клинических условиях, такие как антимицетики, также могут вводиться по желанию.

Согласно некоторым вариантам осуществления комбинация антитела к TIM3 и второго средства, обсуждаемого в настоящем документе, может вводиться одновременно в виде одной композиции в фармацевтически приемлемом носителе или одновременно в виде отдельных композиций с антителом к TIM3 и вторым средством в фармацевтически приемлемом носителе. Согласно другому варианту осуществления комбинация антитела к TIM3 и второго средства может вводиться последовательно. Введение двух средств может начинаться в моменты времени, разделенные между собой, например, на 30, 60, 90, 120 минут; 3, 6, 12, 24, 36, 48 часов; 3, 5, 7 дней или одну или несколько недель, или введение второго средства может начинаться, например, через 30, 60, 90, 120 минут; 3, 6, 12, 24, 36, 48 часов; 3, 5, 7 дней или одну или несколько недель после введения первого средства.

Согласно некоторым вариантам осуществления противоопухолевое антитело, которое можно комбинировать с антителом к TIM3 и/или вторым средством, включает в себя RITUXAN® (ритуксимаб), HERCEPTIN® (трастузумаб), BEXXAR® (тозитумомаб), ZEVALIN® (ибритумомаб), CAMPATH® (алемтузумаб), LYMPHOCIDE® (эпрутузумаб), AVASTIN® (бевацизумаб) и TARCEVA® (эрлотиниб) или любую их комбинацию. Согласно другим вариантам осуществления второе антитело, применимое для комбинированного способа лечения с антителом к TIM3, может представлять собой конъюгат лекарственного средства с антителом.

Согласно другому варианту осуществления антитело к TIM3, отдельно или в комбинации с другим средством, используют одновременно или последовательно с трансплантацией костного мозга для лечения различных опухолей гематопоетического происхождения.

В настоящем документе предусмотрены способы изменения нежелательного явления, связанного с лечением гиперпролиферативного заболевания (например, рака) иммуностимулирующим средством, предусматривающие введение субъекту антитела к TIM3 со вторым средством или без него. Например, описанные в настоящем документе способы обеспечивают способ снижения частоты индуцированных иммуностимулирующими терапевтическими антителами колитов или диареи путем введения пациенту неабсорбируемого стероида. Используемый в настоящем документе термин "неабсорбируемый стероид" представляет собой глюкокортикоид, который проявляет обширный метаболизм первого прохода, так что после метаболизма в печени биодоступность стероида является низкой, т.е. менее чем приблизительно 20%. Согласно одному описанному в настоящем документе варианту осуществления неабсорбируемый стероид представляет собой будесонид. Будесонид представляет собой глюкокортикостероид местного действия, который интенсивно метаболизируется, главным образом, печенью, после перорального приема. ENTOCORT EC® (Astra-Zeneca) представляет собой пероральный состав будесонида, зависящий от pH и времени, разработанный для оптимизации доставки лекарственного средства в подвздошную кишку и по всей толстой кишке. ENTOCORT EC® одобрен в США для лечения легкой и умеренной болезни Крона, включающей подвздошную кишку и/или восходящую ободочную кишку. Согласно другим вариантам осуществления антитело к TIM3 в комбинации с неабсорбируемым стероидом может быть дополнительно скомбинировано с салицилатом. Салицилаты включают в себя средства 5-ASA, такие как, например, сульфасалазин (AZULFIDINE® Pharmacia & Up John); олсалазин (DJPENTUM®, Pharmacia & Up John); бальсалазид (COLAZAL®, Salix Pharmaceuticals, Inc.) и мезаламин (ASACOL®, Procter & Gamble Pharmaceuticals; PENTASA®, Shire US; CANASA®, Axcan Scandipharm, Inc.; ROWASA®, Solvay).

Таблица 1

SEQ ID	Описание	Последовательности
1	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.5 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNH

		YTQKSLSLSPGK*
2	Тяжелая цепь IgG1.1f 8B9	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKGLEWIG YIHYSGSTNYNSLKS RVTISVDT SKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD TGYYGMDIWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSL SLSPGK*
3	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.6 (8C4)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI RYYWVSWIRQPPGKGLEWIG YIHVTGSTNYNPSLKS RVTISVDT SKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATD TGYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSL SLSPGK*
4	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.2 (17C3)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWVG I INPRGDSII IYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCAR DFYSGSNYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
5	Тяжелая цепь IgG1.1f 9F6	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLFLQMN SLRVEDTAVYYCAR DGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI S KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
6	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.4 (3G4)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISTSGSIIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR EGYSSWSYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAP SVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHN

		HYTQKSLSLSPGK*
7	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.9 (17C8)	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISSSGSIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DGYSSGWEYEGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
8	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f TIM3.5 (13A3)	QLQLQESGPGGLVLPKSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDWQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
9	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f 8B9	QVQLQESGPGGLVLPKSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKGLEWIG YIHYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD TGYYGMDIWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHYTQKSL SLSPG*
10	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f TIM3.6 (8C4)	QVQLQESGPGGLVLPKSETLSLTCTVSGGSI SRYWWSWIRQPPGKGLEWIG YIHYTGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATD TGYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHYTQKSL SLSPG*
11	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f TIM3.2 (17C3)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMMG IINPRGDSIIYAQKFGQGRVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSED TAVYYCAR DFYSGNYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH

		YTQKSLSLSPG*
12	Тяжелая цепь (без C- концевого К) IgG1.1f 9F6	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCAR DGYSSGWYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLTGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNN YTQKSLSLSPG*
13	Тяжелая цепь (без C- концевого К) IgG1.1f TIM3.4 (3G4)	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISTSGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EGYSSWSYGGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG*
14	Тяжелая цепь (без C- концевого К) IgG1.1f TIM3.9 (17C8)	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISSSGSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DGYSSGWEYGGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLTGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNN YTQKSLSLSPG*
15	Тяжелая цепь IgG1.3f TIM3.5 (13A3)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLTGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNN YTQKSLSLSPG*
16	Тяжелая цепь IgG1.3f 8B9	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKGLEWIG YIHYSGSTNYNSSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD TGYGMDIWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHYTQKSL

		SLSPGK*
17	Тяжелая цепь IgG1.3f TIM3.6 (8C4)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSSGGISIRYYWSWIRQPPGKGLEWIG YIHYTGSTNYPNPSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATD TGYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK*
18	Тяжелая цепь IgG1.3f TIM3.2 (17C3)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWVG IINPRGDSIIYAQKFGQGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCAR DFYGGNYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
19	Тяжелая цепь IgG1.3f 9F6	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISGGGSIYYADSVKGRFTISRDNANKSLFLQMNSLRVEDTAVYYCAR DGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
20	Тяжелая цепь IgG1.3f TIM3.4 (3G4)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISTSGSIIYYADSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EGYSSWSYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK*
21	Тяжелая цепь IgG1.3f TIM3.9 (17C8)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISSSGSIIYYADSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DGYSSGWEYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHGFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCKDKTHTCPPCPAPEAEGAP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH

		YTQKSLSLSPGK*
22	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f TIM3.5 (13A3)	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
23	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f 8B9	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKGLEWIG YIHYSGSTNYNSSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD TGYYGMDIWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHYTQKSL SLSPG*
24	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f TIM3.6 (8C4)	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SRYYSWIRQPPGKGLEWIG YIHYTGSTNYNPSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATD TGYYGMDVWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHYTQKSL SLSPG*
25	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f TIM3.2 (17C3)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWVG IINPRGDSIIYAQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCAR DFYGGSGNYGMDVWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
26	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f 9F6	QVQLVESGGGLVKGKGLRSLRSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCAR DGYSSGWYYYGMDVWGQGTAVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH

		YTQKSLSLSPG*
27	Тяжелая цепь (без C- концевого К) IgG1.3f TIM3.4 (3G4)	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISTSGSIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR EGYSSSSWSYGYMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHFFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPG*
28	Тяжелая цепь (без C- концевого К) IgG1.3f TIM3.9 (17C8)	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISSSGSIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DGYSSGWEYGYMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHFFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAP VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNH YTQKSLSLSPG*
72	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60Q) TIM3.10 (13A3)	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHFFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAP VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
73	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60S) TIM3.11 (13A3)	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYSPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHFFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAP VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
74	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60A) TIM3.12 (13A3)	QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYAPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHFFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPS SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAP VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNH

		YTQKSLSLSPGK*
75	Тяжелая цепь IgG1.1f (D101E) TIM3.13 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFEPWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
76	Тяжелая цепь IgG1.1f (P102V) TIM3.14 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDVWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
77	Тяжелая цепь IgG1.1f (P102Y) TIM3.15 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
78	Тяжелая цепь IgG1.1f (P102L) TIM3.16 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDLWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
79	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60Q/P102 Y) TIM3.17 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKHTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH

		YTQKSLSLSPGK*
349	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60Q/D101 E) TIM3.18 (13A3)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFEPWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
80	Тяжелая цепь IgG1.1f (S61P) TIM3.8 (8B9)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPKGGLEWIG YIHYSGSTNYPNLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD TGYGMDIWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNHYTQKSL SLSPGK*
81	Тяжелая цепь IgG1.1f (A108T) TIM3.7 (9F6)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPKGGLEWVS FISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCAR DGYSSGWYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
82	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60Q) TIM3.10 (13A3)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
83	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60S) TIM3.11	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTVTSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH

	(13A3)	YTQKSLSLSPG*
84	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60A) TIM3.12 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
85	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (D101E) TIM3.13 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFEPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
86	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (P102V) TIM3.14 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDVWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
87	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (P102Y) TIM3.15 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
88	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDLWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK

	(P102L) TIM3.16 (13A3)	TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
89	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60Q/P102 Y) TIM3.17 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWI RQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
350	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60Q/D101 E) TIM3.18 (13A3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWI RQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFEPWQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
90	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (S61P) TIM3.8 (8B9)	QVQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKGLEWIG YIHYSGSTNYPNLSKSRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARD TGYGMDI WGGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
91	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (A108T) TIM3.7 (9F6)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS FISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCAR DGYSSGWYYYGMDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
92	Тяжелая цепь IgG1.3f (N60Q)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWI RQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS

	ТІМ3.10 (13А3)	SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDТLМІSRТPEVТCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKТІS KAKGQPREPQVYТLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKТТPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVФSСVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
93	Тяжелая цепь IgG1.3f (N60S) ТІМ3.11 (13А3)	QLQLQESGPGLVKPSЕТLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYSPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVТАADТАVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGTЛVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDТLМІSRТPEVТCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKТІS KAKGQPREPQVYТLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKТТPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVФSСVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
94	Тяжелая цепь IgG1.3f (N60A) ТІМ3.12 (13А3)	QLQLQESGPGLVKPSЕТLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYAPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVТАADТАVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGTЛVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDТLМІSRТPEVТCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKТІS KAKGQPREPQVYТLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKТТPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVФSСVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
95	Тяжелая цепь IgG1.3f (D101E) ТІМ3.13 (13А3)	QLQLQESGPGLVKPSЕТLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVТАADТАVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGTЛVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDТLМІSRТPEVТCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKТІS KAKGQPREPQVYТLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKТТPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVФSСVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
96	Тяжелая цепь IgG1.3f (P102V) ТІМ3.14 (13А3)	QLQLQESGPGLVKPSЕТLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVТАADТАVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGTЛVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDТLМІSRТPEVТCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKТІS KAKGQPREPQVYТLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKТТPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVФSСVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK*
97	Тяжелая цепь IgG1.3f (P102Y)	QLQLQESGPGLVKPSЕТLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVТАADТАVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGTЛVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS

	ТІМ3.15 (13А3)	SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSAFLYSLKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
98	Тяжелая цепь IgG1.3f (P102L) ТІМ3.16 (13А3)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDLWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSAFLYSLKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
99	Тяжелая цепь IgG1.3f (N60Q/P102 Y) ТІМ3.17 (13А3)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSAFLYSLKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
351	Тяжелая цепь IgG1.3f (N60Q/D101 E) ТІМ3.18 (13А3)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFEPWQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGSAFLYSLKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNNH YTQKSLSLSPGK*
100	Тяжелая цепь IgG1.3f (S61P) ТІМ3.8 (8B9)	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRHYWNWIRQPPKGGLEWIG YIHYSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD TGYGMDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGSAFLYSLKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNNHYTQKSL SLSPGK*
101	Тяжелая цепь IgG1.3f (A108T)	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPKGGLEWVS FISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKSLFLQMNSLRVEDTAVYYCAR DGYSSGWYYYGMDVWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS

	ТМ3.7 (9F6)	SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
102	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60Q) ТМ3.10 (13А3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
103	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60S) ТМ3.11 (13А3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYSPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
104	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60A) ТМ3.12 (13А3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYAPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
105	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (D101E) ТМ3.13 (13А3)	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFEPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNNH YTQKSLSLSPG*
106	Тяжелая	QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA

	цепь (без С-концевого К) IgG1.3f (P102V) TIM3.14 (13A3)	TGGPYGDYAHWFVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNN YTQKSLSLSPG*
107	Тяжелая цепь (без С-концевого К) IgG1.3f (P102Y) TIM3.15 (13A3)	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNN YTQKSLSLSPG*
108	Тяжелая цепь (без С-концевого К) IgG1.3f (P102L) TIM3.16 (13A3)	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFDLWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNN YTQKSLSLSPG*
109	Тяжелая цепь (без С-концевого К) IgG1.3f (N60Q/P102Y) TIM3.17 (13A3)	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNN YTQKSLSLSPG*
352	Тяжелая цепь (без С-концевого К) IgG1.3f (N60Q/D101E) TIM3.18	QLQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIROPKGGLEW IGSIYYSGFTYYQPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCA TGGPYGDYAHWFEPWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNN

	(13A3)	YTQKSLSLSPG*
110	Тяжелая цепь (без C-концевого К) IgG1.3f (S61P) TIM3.8 (8B9)	QVQLQESGPGLVKPKSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKLEWIG YIHYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARD TGYYGMDIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG*
111	Тяжелая цепь (без C-концевого К) IgG1.3f (A108T) TIM3.7 (9F6)	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKLEWVS FISGGGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCAR DGYSSGWYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG*
29	Легкая цепь IgG1 TIM3.5 (13A3), TIM3.2 (17C3), TIM3.4 (3G4)	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPIT FGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
30	Легкая цепь IgG1 8B9, TIM3.6 (8C4), TIM3.9 (17C8)	EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPIT FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*
32	Легкая цепь IgG1 VK1 9F6	AIQLTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIY DASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNYPRTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC*
134	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.5	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT

	(13A3)	<p>GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCC CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAATCAGGGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCGTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCCTCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTACCTGCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
135	Тяжелая цепь IgG1.1f 8B9	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCACTA CTGGAAC TGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG TATATCCATTACAGTGGAAACCAACTACAATTCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTCAGAGTC GAGCTCTGTGACCGTGCAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGGAGAGAT ACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTACCG TCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCGTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTA CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TACACATGCCACCCTGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCGTCAAGTCTTCTTCCCCCA AAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCGTCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAG ACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCCTACACGCAGAAGAGCCTC</p>

		TCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
136	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.6 (8C4)	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTТАCTA CTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG TATATCCATTACACTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGCAGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGAT ACGGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCCTCAGGACTCTA CTCCCTCAGCAGGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAACTTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCACTCTTCTTCCCCCA AAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAAGTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAG ACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCA AGTCCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTAAATGA</p>
137	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.2 (17C3)	<p>CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCT CAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACACTTTCACCAGCTACTA TATGCACCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGGAGTGGATGGGA ATAATCAACCCTAGGGGTGATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCAGG GCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGA GCTGAGCAGCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA GATTTCTATGGTTCCGGGAACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCAACCTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAACTTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTTCAGCG TCCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC</p>

		AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
138	Тяжелая цепь IgG1.1f 9F6	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACC GCGGTCAACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCC CTGGGCTGCC TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAAC TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACTTCCCGGTGTCTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGT GCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGA GGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGT CAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCTCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
139	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.4 (3G4)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GAAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCTTACTACTACGGTATGGACGTCTGGG GCCAAGGGACCACGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATC GGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG GCCCTGGGCTGCC TGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACTTCCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA AACTCACACATGCCACCGT GCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCG

		TCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCTGTGGTCA GCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATC TCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACG GCTCCTTCTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
140	Тяжелая цепь IgG1.1f TIM3.9 (17C8)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCAATTAGTAGTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAATCACTGTATCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCGCTGTCTT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCGTGCCTTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCAGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCCGGA CCCC TGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCTGTGGTCAAGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
141	Тяжелая цепь (без C- концевого К) IgG1.1f TIM3.5 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCCGAGGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTGGTTCCGACCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC

		<p>CTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCCGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCCCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTTCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
142	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f 8B9	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTACTA CTGGAACCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG TATATCCATTACAGTGGAAAGCACAACCTACAATTCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGTCCGGACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGAT ACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCAGCTAGCACAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGACCTCTA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCCTCAGGACTCTA CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGCCCCGTGAGTCTTCCCTTCCCCCA AAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCCTCACCGTCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACATAAG ACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCCTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
143	Тяжелая цепь (без С-	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTACTA CTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG</p>

	<p>концевого К) IgG1.1f TIM3.6 (8C4)</p>	<p>TATATCCATTACACTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGCAGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGAT ACGGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTACCCG TCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTA CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCA AAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTGAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACATAAG ACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
144	<p>Тяжелая цепь (без C- концевого К) IgG1.1f TIM3.2 (17C3)</p>	<p>CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCT CAGTGAAGTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACTTTACCAGCTACTA TATGCACCTGGGTGCGACAGGCCCTTGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA ATAATCAACCCTAGGGGTGATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCCAGG GCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGA GCTGAGCAGCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA GATTTCTATGGTTCGGGAAACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCACAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT</p>

		CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
145	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f 9F6	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGCTCGTGTTCCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCGCGGTACCCTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCTGCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCGTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCCTCCCGTGTGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
146	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f TIM3.4 (3G4)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGCTCACTGTATCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GAAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCCCTACTACTACGGTATGGACGTCTGGG GCCAAGGGACCACGGTACCCTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATC GGTCTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA AACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCG TCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCTGTGGTCA

		<p> GCGTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATC TCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCC CATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA </p>
147	<p> Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f ТИМ3.9 (17С8) </p>	<p> CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTAGTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCCGT CTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTC GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA GGTCAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGATACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA </p>
148	<p> Тяжелая цепь IgG1.3f ТИМ3.5 (13А3) </p>	<p> CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTIONTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACCGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA </p>

		GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGTCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCGTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
149	Тяжелая цепь IgG1.3f 8B9	AGGTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGAC CCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCACTAC TGGAAC TGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGT ATATCCATTACAGTGGAAAGCACCAACTACAATTCCTCCCTCAAGAGTCG AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTG AGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATA CTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT CTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCC TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC TCAAGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGACACCTTCCCCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCAGCA CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGTGGACAA GAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCAACATGCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCAA AACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCGTCTGCACCA GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAA GAACCAGGTGAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGA CCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAA GCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCCTACACGCAGAAGAGCCTCT CCCTGTCCCCGGGTAATGA
150	Тяжелая цепь IgG1.3f TIM3.6 (8C4)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTACTA CTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG TATATCCATTACACTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGCAGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGAT ACGGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG

		TCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGGCTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTA CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCCCTCTCCCCCA AAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAG ACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGTAAATGA
151	Тяжелая цепь IgG1.3f Т1М3.2 (17С3)	CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCT CAGTGAAGGTCTCTGCAAGGCATCTGGATAACACTTTCACCAGTACTA TATGCACCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGA ATAATCAACCCTAGGGGTGATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCAGG GCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGA GCTGAGCAGCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA GATTTCTATGGTTCGGGAAACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACCGTCAACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGTCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCAT CCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
152	Тяжелая	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT

	цепь IgG1.3f 9F6	<p>CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGCTCGCTGTTTCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCCGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCCAAGCAGCCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGC TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGCCCCCAT CCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
153	Тяжелая цепь IgG1.3f ПМЗ.4 (3G4)	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGCTACTGTATCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GAAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCTACTACTACGGTATGGACGTCTGGG GCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATC GGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGT CCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA AACTCACACATGCCACCGTGCCCAAGCAGCCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCG TCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA GCGTCTCACCGTCTTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATC TCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGCCCC CATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGT</p>

		CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
154	Тяжелая цепь IgG1.3f ПМ3.9 (17C8)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTAGTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCAGGTACCCTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTT ACAGTCCCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCTGTGGTACGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGGTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTAAATGA
155	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f ПМ3.5 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCST GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTGGTTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCAACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTT ACAGTCCCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA

		GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTCCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
156	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f 8B9	AGGTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGGAGAC CCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCACTAC TGGAAGTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGGT ATATCCATTACAGTGGAAAGCACAACACTACAATTCCTCCCTCAAGAGTCG AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTG AGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATA CTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT CTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCC TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCGTGGAACTCAGGCGCCCTGAC CAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTAC TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGA CCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAA GAGAGTTGAGCCCAAATCTGTGACAAAACACTCACACATGCCACCGTGC CCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAA AACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGT GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCGTCCCTGCACCA GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCC GAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAA GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGAC ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGA CCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAA GCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT CCCTGTCCCCGGGTTGA
157	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f ПМЗ.6 (8С4)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTTACTA CTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG TATATCCATTACACTGGGAGCACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGCAGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGAT ACGGGCTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCGTGGAACTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTA

		<p>CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCCCTTCCCCCA AAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAG ACCACGCCCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGTTGA</p>
158	<p>Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f ПМ3.2 (17С3)</p>	<p>CAGGTGCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCT CAGTGAAGGTCTCTGCAAGGCATCTGGATACTTTACCAGCTACTA TATGCACCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGGATGGATGGGA ATAATCAACCCTAGGGGTGATAGCATAATCTACGCACAGAAGTTCCAGG GCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGA GCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA GATTTCTATGGTTCGGGAACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTC ACAGTCCCTCAGGACTACTCCTCAGCAGCGTGGTGAACCTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTTGA</p>
159	<p>Тяжелая цепь (без С- концевого К)</p>	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCAATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGCTCGCTGTTTCTGCA</p>

	IgG1.3f 9F6	<p>AATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCGCGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAATCAGGGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTC GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACAGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTTCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
160	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f TIM3.4 (3G4)	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTACTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GAAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCTACTACTACGGTATGGACGTCTGGG GCCAAGGGACCACGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATC GGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCG GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAATCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGT CCTACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCC TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA AACTCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCG TCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA GCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATC TCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCC CATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGT CAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACAACACAAGACCACGCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC</p>

		CACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
161	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f TIM3.9 (17C8)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTAGTAGTGGTAGTATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAGTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG GGAACTCAGGCGCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGTCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCGTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAATAAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
205	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60Q) TIM3.10 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACAGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCCTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCTGGTCAACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG GGAACTCAGGCGCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGTCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC

		AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
206	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60S) TIM3.11 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACTCACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGC TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
207	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60A) TIM3.12 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACGCACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA

		<p>GTCTTCCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
208	<p>Тяжелая цепь IgG1.1f (D101E) TIM3.13 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGAACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCGGTGTCTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGCCCTCA GTCTTCCTCTTCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
209	<p>Тяжелая цепь IgG1.1f (P102V) TIM3.14 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACGTATGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC</p>

		<p>CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
210	<p>Тяжелая цепь IgG1.1f (P102Y) TIM3.15 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTGGTTCGACTACTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCCAGCGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
211	<p>Тяжелая цепь IgG1.1f</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG</p>

	(P102L) TIM3.16 (13A3)	<p>ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCCTGGTTCGACTACTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCCTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
212	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60Q/P102 Y) TIM3.17 (13A3)	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGATGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCCTGGTTCGACTACTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCCTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT</p>

		CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
355	Тяжелая цепь IgG1.1f (N60Q/D101 E) TIM3.18 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTGGTTCGAACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGAGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
213	Тяжелая цепь IgG1.1f (S61P) TIM3.8 (8B9)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTACTA CTGGAAC TGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG TATATCCATTACAGTGGAAAGCACCACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT ACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTA CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TACACATGCCACCGT CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCAAGTCTTCCCTCTTCCCCCA AAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCCTCACCGTCTGCACC

		AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAG ACCACGCC TCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTAATGA
214	Тяжелая цепь IgG1.1f (A108T) TIM3.7 (9F6)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGCTGTTTCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGTGCAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCCT ACAGTCCCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTGCAGG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCC TGGCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
215	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60Q) TIM3.10 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCCT ACAGTCCCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA

		GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCCTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
216	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60S) TIM3.11 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACTCACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCCTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
217	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60A)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACGCACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC

	TIM3.12 (13A3)	AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCT GGAACTCAGGCGCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTTGA
218	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (D101E) TIM3.13 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGAACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCT GGAACTCAGGCGCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTTGA
219	Тяжелая	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA

	<p>цепь (без С- концевого К)</p> <p>IgG1.1f (P102V)</p> <p>TIM3.14 (13A3)</p>	<p>CCCTGTCCCTCACCTGCACGTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACTATGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCAGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTGA</p>
220	<p>Тяжелая цепь (без С- концевого К)</p> <p>IgG1.1f (P102Y)</p> <p>TIM3.15 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACGTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACTACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA</p>

		<p>AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
221	<p>Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (P102L) TIM3.16 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCTATGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCGTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCCTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
222	<p>Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60Q/P102 Y) TIM3.17 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACTACTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCGTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA</p>

		GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
356	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (N60Q/D101 E) TIM3.18 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACAGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTTCCGAACCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCATCCGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCCTCCCGTGGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
223	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (S61P) TIM3.8 (8B9)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCACTA CTGGAACCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG TATATCCATTACAGTGGAAAGCACAACATAATCCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGTGCAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT ACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTACCCG TCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTA

		<p>CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTGAGTCTTCCCTCTCCCCCA AAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAG ACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGTTGA</p>
224	<p>Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.1f (А108Т) ТМЗ.7 (9F6)</p>	<p>CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGTT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGACAACGCCAAGAAGCTCGTGTTCCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTCCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGC TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTTGA</p>
225	<p>Тяжелая цепь IgG1.3f (N60Q)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCAGTCCCATATCCGTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT</p>

	TIM3.10 (13A3)	<p>GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCCTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
226	Тяжелая цепь IgG1.3f (N60S) TIM3.11 (13A3)	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACTCACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCCTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCCTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC</p>

		TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
227	Тяжелая цепь IgG1.3f (N60A) TIM3.12 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCCTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACGCACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGA CTACGCCACTGGTTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAАCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCTGCACACCTTCCCGGTGTCTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCCACCGTGCACAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAАCTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGTCAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
228	Тяжелая цепь IgG1.3f (D101E) TIM3.13 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCCTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTCACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGA CTACGCCACTGGTTTCGAACCCTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAАCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCCACCGTGCACAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC

		AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
229	Тяжелая цепь IgG1.3f (P102V) TIM3.14 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACCGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACGTATGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGC TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
230	Тяжелая цепь IgG1.3f (P102Y) TIM3.15 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACCGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACTACTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA

		<p>GTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
231	<p>Тяжелая цепь IgG1.3f (P102L) TIM3.16 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCTATGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGGCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
232	<p>Тяжелая цепь IgG1.3f (N60Q/P102 Y) TIM3.17 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACTACTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGGCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC</p>

		<p>CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
357	Тяжелая цепь IgG1.3f (N60Q/D101 E) TIM3.18 (13A3)	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTGGTTCTGAACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCCAGCGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA</p>
233	Тяжелая цепь IgG1.3f	<p>CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCACTA CTGGAACCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG</p>

	(S61P) TIM3.8 (8B9)	TATATCCATTACAGTGGGAAGCACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT ACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCAGCTAGCACCAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACCTATA CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCCGTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCA AAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAG ACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
234	Тяжелая цепь IgG1.3f (A108T) TIM3.7 (9F6)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTGTGTGACAGG GCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCGTGTCTTCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCACCGACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCAAAACCCAAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT

		CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATGA
235	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60Q) TIM3.10 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGC TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGACCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
236	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60S) TIM3.11 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACTCACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGC

		TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTTGA
237	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60A) TIM3.12 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACGCACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCACAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCCCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCCGTGTGGTCAAGC TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCCTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGTTGA
238	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (D101E) TIM3.13 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA

		GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCTCTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
239	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (P102V) TIM3.14 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTGGTTCGACGTATGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCTCTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
240	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (P102Y)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCACTGGTTCGACGTATGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCCTCTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA

	TIM3.15 (13A3)	AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGTCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGGCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
241	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (P102L) TIM3.16 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACAACCCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGAGACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCACTGGTTCGACCTATGGGGCC AGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCGTCCCCCAT CCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
242	Тяжелая	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA

	<p>цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60Q/P102 Y) TIM3.17 (13A3)</p>	<p>CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCCTGGTTCGACTACTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTACCCTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCG TCCTCACCGTCTTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA</p>
358	<p>Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60Q/D101 E) TIM3.18 (13A3)</p>	<p>CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTGACTACGCCCCTGGTTCGAACCCCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTACCCTCTCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTACGCG TCCTCACCGTCTTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA</p>

		AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
374	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (N60Q/D101 E) (T168C) TIM3.18 (13A3)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGAAG TТАCTACTGGGGCTGGATTTCGCCAGCCCCAGGGAAGGGCTGGAGTGG ATTGGGAGTATCTATTATAGTGGGTTACCTACTACCAACCGTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCT GAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACACACGGCTGTGTATTATTGTGCG ACAGGGGGGCCCTACGGTACTACGCCACTGGTTCGAACCTGGGGCC AGGGAACCCCTGGTACCCTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCT ACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCTGACCTGCCTGCTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
243	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (S61P) TIM3.8 (8B9)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGA CCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGTCAC TA CTGGAAC TGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGATTGGG TATATCCATTACAGTGGAAACCAACTACAATCCCTCCCTCAAGAGTC GAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCT GAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT ACTGGGTACTACGGTATGGACATCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCAACCG TCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTA CTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACA AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TACACATGCCACCCTG CCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCA AAACCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCG TGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA

		CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGC CCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCA AGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACATAAG ACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCCCCGGGTTGA
244	Тяжелая цепь (без С- концевого К) IgG1.3f (A108T) TIM3.7 (9F6)	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGACTACTA CATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCA TTCATTAGTGGTGGTGGTAGTACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGCTCGTGTTCCTGCA AATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA GATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCC AAGGGACCACGGTACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC CTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTT ACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTTCC AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAC TCACACATGCCACCCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACTCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAATGCCAAG ACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACATAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCA GGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTTGA
162	Легкая цепь IgG1 TIM3.5 (13A3), TIM3.2 (17C3), TIM3.4 (3G4)	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTA CTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC TATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAAGTGGCA GTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGA AGATTTTGCAGTGTATTACTGTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGATCACC TTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAACGTACGGTGGCTGCACCAT CTGTCTTCTATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGC CTCTGTTGTGTGCTGTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCT

		GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGG GAGAGTGTAG
163	Легкая цепь IgG1 8B9, TIM3.6 (8C4), TIM3.9 (17C8)	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTA CTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC TATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCA GTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGA AGATTTTGCAGTGTATTACTGTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCTCACT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCAT CTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTT GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGG GAGAGTGTAG
165	Легкая цепь IgG1 VK1 9F6	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCAGTGCTTT AGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTAT GATGCCTCCAGTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTG GATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGA TTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCCTCGGACGTTT GGCCAAGGGACCAAGGTGAAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTG TCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCCT TGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG TGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTC CAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG AGTGTAG
166	Легкая цепь IgG1 VK2 9F6	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTA CTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC TATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCA GTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGA AGATTTTGCAGTGTATTACTGTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACTCACTTTC GGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTG TCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCCT TGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG TGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTC CAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTTGAC GCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG AGTGTAG
164	Легкая цепь IgG1 VK3 9F6	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGG AAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTA CTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATC TATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTTCAGTGGCA GTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGA
		AGATTTTGCAGTGTATTACTGTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGTCACT TTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCAT CTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGC CTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAAGCTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTC TCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTT GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGG GAGAGTGTAG

В практике настоящего раскрытия будут использоваться, если не указано иное, обычные способы клеточной биологии, клеточной культуры, молекулярной биологии, трансгенной биологии, микробиологии, рекомбинантной ДНК и иммунологии, которые известны специалистам в настоящей области техники. Такие способы подробно описаны в литературе. Смотрите, например, Sambrook et al., ed. (1989) *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook et al., ed.

(1992) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) *DNA Cloning*, Volumes I and II; Gait, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*; Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195; Hames and Higgins, eds. (1984) *Nucleic Acid Hybridization*; Hames and Higgins, eds. (1984) *Transcription And Translation*; Freshney (1987) *Culture Of Animal Cells* (Alan R. Liss, Inc.); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press) (1986); Perbal (1984) *A Practical Guide To Molecular Cloning*; the treatise, *Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller and Calos eds. (1987) *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells*, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu et al., eds., *Methods In Enzymology*, Vols. 154 and 155; Mayer and Walker, eds. (1987) *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Academic Press, London); Weir and Blackwell, eds., (1986) *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I-IV; *Manipulating the Mouse Embryo*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986); Crooks, *Antisense drug Technology: Principles, strategies and applications*, 2nd Ed. CRC Press (2007) и в Ausubel et al. (1989) *Current Protocols in Molecular Biology* (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.).

Все цитируемые выше ссылки, а также все цитируемые в настоящем документе ссылки полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

Следующие примеры предлагаются в качестве иллюстрации, а не в качестве ограничения.

Примеры

Пример 1. Идентификация антител к TIM3 человека.

Трансгенных мышей с человеческими IgG (KM) иммунизировали фракцией плазматической мембраны человеческих клеток НЕК-293, трансфицированных TIM-3 человека. Клетки лимфатических узлов всех иммунизированных мышей сливали с партнером по слиянию SP2/0. Супернатанты гибридомы сначала подвергали скринингу на присутствие антител IgG человека с использованием анализа с высокой пропускной способностью. Затем определяли специфичность антигена связыванием FACS на трансфицированных TIM-3 человека клетках. Вкратце, выполняли 47 слияний, идентифицировали 3935 IgG-положительных клонов, из которых 448 идентифицировали как положительные в отношении hTIM3 с помощью ELISA, и из этих 126 были обнаружены как положительные с помощью FACS hTIM3. Из них 117 клонов (или антител) дополнительно анализировали различными способами, включая в себя: (1) эпитоп-специфическую сортировку, выполненную посредством Biacore; (2) специфическую к TIM3 сортировку с трансфицированной TIM-3 клеточной линией (293-TIM3) для определения EC₅₀; (3) анализы Th1 (как дополнительно описано ниже) и (4) анализы TIL (как дополнительно описано ниже). Из 117 семь гибридом, экспрессирующих полностью человеческие антитела к TIM3 человека, выбирали как имеющих желательные характеристики: 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8. Аминокислота и нуклеотидные последовательности, кодирующие переменные домены антител, производимые этими гибридомами, представлены на фиг. 1-7, а SEQ ID NO CDR, переменных областей и тяжелых и легких цепей, а также их изотип на фиг. 13 (см. строки с названиями гибридом). Гибридома и секретируемое ею антитело имеют одно и то же название (например, 13A3).

Антитела, содержащие CDR и/или переменные домены антител 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8, также экспрессировали рекомбинантно в клетках-хозяевах. Рекомбинантные антитела указаны в настоящем документе под названиями от "TIM3.2" до "TIM3.18". При ссылке на любое из этих рекомбинантных антител по их названиям от "TIM3.2" до "TIM3.18" не указывается никакой конкретной константной области, т.е. антитела от TIM3.2 до TIM3.18 могут иметь любую желаемую константную область, например, те, которые показаны на фиг. 13.

CDR и переменные домены экспрессировали в контексте константной области IgG1 без эффекторных функций (аллотип "I"), которая содержит замены L234A, L235E, G237A, A330S и P331S ("IgG1.1f"), и IgG1.3f, константной области IgG1 без эффекторных функций (аллотип "I"), которая содержит замены L234A, L235E, G237A, т.е. отличается от IgG1.1f только тем, что не содержит замен A330S и P331S. CDR и переменные области также можно использовать в контекст IgG4, например, IgG4P (т.е. IgG4 с заменой "S228P"). Некоторые CDR и каркасные области этих антител также были мутированы. В частности, VHCDR3 из 13A3 и 8B9, VHCDR3 из 13A3 и VHFR4 были мутированы. Перечень полученных антител IgG1.1f и IgG1.3f и других антител, которые могут быть получены, представлен на фиг. 13, в табл. 1 и в перечне последовательностей. Антитела, экспрессируемые рекомбинантно, включают в себя антитела, описанные в представленных ниже примерах, а также антитела 3G4, 8C4, 9F6, 8B9, 17C8, 5D6, которые экспрессировались как антитела IgG1.1f.

Выравнивание последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей антител 13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6, 3G4 и 17C8 представлено на фиг. 8A и 9A, соответственно. Обозначения последовательности областей VH и VL представлены на фиг. 8B и 9B, соответственно. Выравнивание последовательностей цепей VH дикого типа и мутированных 13A3 представлено на фиг. 10. Выравнивание последовательностей цепей VH дикого типа и мутированных 9F6 представлено на фиг. 11. Выравнивание последовательностей цепей VH дикого типа и мутированных 8B9 представлено на фиг. 12.

Пример 2. Характеристика человеческих антител к TIM3.

Выбранные антитела к TIM3 анализировали на связывание с экспрессирующими TIM3 клетками. На фиг. 14A показано связывание различных антител к TIM3 с клетками, трансфицированными TIM3 человека (фиг. 14A), и с активированными анти-CD3/анти-CD28 Т-клетками человека, (фиг. 14B), как

определено посредством проточной цитометрии. Антитела также исследовали на связывание с TIM3 яванского макака, используя клетки, трансфицированные TIM3 яванского макака (фиг. 15А), и активированные анти-CD3/анти-CD28 Т-клетки яванского макака (фиг. 15В). На фиг. 15А показано, что 13А3 характеризуется наилучшим EC₅₀ связывания для линии клеток, трансфицированных TIM3 яванского макака, и это единственное антитело к TIM3, которое реагирует с активированными Т-клетками яванского макака.

Пример 3. Аффинность связывания антител к TIM3 с TIM3 человека и яванского макака, определенная с помощью поверхностного плазмонного резонанса.

Кинетику и аффинность фрагментов Fab 13А3 к TIM3 по отношению к TIM3 человека и яванского макака определяли на приборе Biacore T200 при температуре 37°C в PBS, pH 7,4, с добавлением 0,05% (об./об.) Tween-20, как дополнительно описано ниже.

Используемый белок TIM3 человека состоял из внеклеточного домена (ECD) TIM3 человека, связанного с Fc мыши, тем самым образуя димерный белок ECD-Fc hTIM3 ("hTIM3-mFc"). Этот слитый белок экспрессировали из стабильно трансфицированных клеток CHO и очищали из среды с использованием аффинности к белку А с последующей эксклюзионной хроматографией. Используемый рекомбинантный белок TIM3 яванского макака состоял из внеклеточного домена TIM3 яванского макака, за которым следовали линкер и аффинные маркеры, тем самым образуя мономерный белок ECD TIM3 яванского макака ("супо-TIM3-MyсHisАvi"). Этот слитый белок экспрессировали из временно трансфицированных клеток Expi293 (Life Tech), и белок выделяли из среды и очищали с использованием аффинного маркера (6x His) с последующей эксклюзионной хроматографией.

Последовательность аминокислот hTIM3-mFc была следующей:

```
SEVEYRAEVLGQNAAYLPCFYTPAAPGNLVPVCGWKGACPVFECGNVLRRTDERDVNYWTSRYWLN
GDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLLKLVKPAKVTPAPTRQRDFATAAFP
RMLTTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIRIGASVPRDCGCKP
CICCTVPEVSSVFIFFPKPKDVLITITLTPKVTCVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPRE
EQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTI PPPKEQ
MAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLVNQKSNWEAGN
TFTCSVLHEGLHNNHTEKSLSHSPGK (SEQ ID NO: 375)
```

Последовательность аминокислот супо-TIM3-MyсHisАvi была следующей:

```
SEVEYRAEVLGQNAAYLPCFYTPAAPGNLVPVCGWKGACPVFECGNVLRRTDERDVNYWTSRYWLN
GDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLLKLVKPAKSPGGGSGGGSEQKLIS
EEDLGHNNHNNHGLNDIFEAQKIEWHE (SEQ ID NO: 376)
```

Использовали Fab из 13А3 и TIM3.18.IgG1.3, связанные с гистидиновым хвостом. Аминокислотная последовательность Fab 6xHis тяжелой цепи (HC) 13А3 была следующей:

```
QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYNPS
LKSRTVTSVDTSKNQFSLKLVSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTTLVTSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCGGHNNHNNH (SEQ ID NO: 365)
```

Аминокислотная последовательность Fab 6xHis N60Q D101E тяжелой цепи (HC) 13А3 была следующей:

```
QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTYYQPS
LKSRTVTSVDTSKNQFSLKLVSSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFEPWGQGLTTLVTSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCGGHNNHNNH (SEQ ID NO: 366)
```

Рекомбинантные Fab 13А3 и TIM3.18.IgG1.3 получали с использованием временной трансфекции Expi293 (Life Tech). Экспрессированный Fab содержал варибельную область тяжелой цепи, за которой следовал СН1 из hIgG1, и варибельную область легкой цепи, за которой следовал домен CL hКарра. Экспрессированный Fab секретируют в среду и очищали с использованием аффинного маркера (6x His).

Чип для захвата антимышиных антител получали на чипе Biacore CM4 серии S (GE Healthcare Life Sciences, № в каталоге BR-1005-34) с использованием набора для захвата Biacore для антител мыши (№ в каталоге BR-1008-38). Слитый белок TIM3 человека-Fc мыши захватывали на проточных ячейках 2 и 3 с двумя различными поверхностными плотностями. Слитый белок TIM3 яванского макака-Fc мыши захватывали на проточной ячейке 4. Проточная ячейка 1 (контрольная поверхность захвата) служила эталоном. Рекомбинантно экспрессированные фрагменты Fab антитела, меченного His, пропускали в виде анализов по всем поверхностям в 3-кратных, 6-членных сериях разведений с верхней концентрацией 1,0

мкМ и нижней концентрацией 4,1 нМ. Полученные сенсограммы были с двумя контрольными источниками (с использованием проточной ячейки 1 и буферной контрольной ячейки) и адаптированы к модели связывания Ленгмюра 1:1 с массопереносом. Данные от проточных ячеек 2 и 3 были нанесены на график глобально.

Скорость образования (K_a) и диссоциации (K_D) комплекса, а также общая константа диссоциации (K_D) представлены в табл. 2.

Таблица 2

Кинетика и аффинность связывания антител к TIM3 13A3 и TIM3.18.IgG1.3 с белками TIM3 человека и яванского макака

Лиганд	Аналиты	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (нМ)
TIM3 человека	Fab hTIM3Fc/13A3	$3,2 \times 10^6$	$6,9 \times 10^{-3}$	2,2
TIM3 яванского макака	Fab cynoTIM3Fc/13A3	$2,4 \times 10^6$	$5,3 \times 10^{-2}$	22
TIM3 человека	Fab hTIM3Fc/TIM3.18	$3,2 \times 10^6$	5×10^{-3}	1,6
TIM3 яванского макака	Fab cynoTIM3Fc/TIM3.18	$3,4 \times 10^6$	$5,9 \times 10^{-2}$	17

Эксперименты с 13A3 не проводили в тот же день, что и эксперименты с TIM3.18.

Пример 4. Аффинность связывания антител к TIM3 с TIM3 человека и яванского макака, определенная посредством анализа Скэтчарда.

Антитело TIM3.18.IgG1.3 подвергали радиоактивному йодированию с помощью $^{125}\text{I-Na}$ (1 мКи; каталог PerkinElmer NEZ033H001 MC) с использованием твердофазного йодирующего реагента IODO-GEN® (1,3,4,6-тетрахлор-3а-ба-дифенилгликурин; каталог Pierce 28601). Избыток йодида удаляли с использованием колонки для обессоливания (каталог Pierce 43243). Фракции меченого антитела собирали и анализировали на радиоактивность на гамма-счетчике Wizard 1470 (PerkinElmer). Концентрацию антитела $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ в каждой фракции рассчитывали с помощью флуорометра Qubit от Invitrogen. Радиологическую чистоту определяли тонкослойной хроматографией пиковых белков и радиоактивных фракций (каталог Pinestar Technology 151-005).

Радиоiodированное антитело TIM3.18.IgG1.3, связывающееся с клетками CHO, экспрессирующими TIM3 человека или яванского макака, демонстрировали путем инкубации клеток CHO, экспрессирующих TIM3 человека или яванского макака, с титрованием антитела $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$. Неспецифическое связывание определяли по связыванию в присутствии титрования 100-кратного молярного избытка немеченого антитела и вычитали из общей СРМ для расчета специфического связывания. Линейную стандартную кривую концентрации антитела $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ в зависимости от СРМ использовали для экстраполяции специфической активности, максимального количества в нМ связанного антитела $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ и, таким образом, расчета числа рецепторов на клетку.

Результаты показаны на фиг. 27А и 27В. Стандартная кривая антитела $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ (фиг. 27А) показывает, что 1 нМ антитела, меченого ^{125}I , равняется 81119,3 имп/мин. Количество рецепторов на клетку рассчитывается по следующему уравнению: $(B_{\text{max}}) \times (\text{число Авогадро}) \times (\text{анализируемый объем}) / \text{количество клеток на лунку}$. Результаты показывают, что антитело TIM3.18.IgG1.3 характеризуется аффинностью 0,26-0,48 нМ к сверхэкспрессированному человеческому TIM3 на клетках CHO (с 414720 рецепторами на клетку) и аффинностью 0,36-0,48 нМ к сверхэкспрессированному TIM3 яванского макака (с 235944 рецепторами на клетку).

Аналогичный анализ, проведенный с антителом $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ на активированных Th1-клетках человека от 2 доноров (50000 клеток/лунку), обеспечивал аффинность 0,125-0,164 нМ, несмотря на почти четырехкратное различие в количестве рецепторов на клетку между донорами (фиг. 28). Связывание радиоiodированного TIM3.18.IgG1.3 с TIM3 человека демонстрировали путем инкубации активированных первичных человеческих Th1-клеток (полученных, как описано в других примерах в настоящем документе) с титрованием $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$. Неспецифическое связывание определяли по связыванию в присутствии титрования 100-кратного молярного избытка немеченого антитела и вычитали из общей СРМ для расчета специфического связывания. Линейную стандартную кривую концентрации $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ в зависимости от СРМ использовали для экстраполяции максимального количества связанного $^{125}\text{I-TIM3.18.IgG1.3}$ в нМ и, следовательно, расчета количества рецепторов на клетку.

Пример 5. Отсутствие перекрестной реактивности TIM3.18.IgG1.3 с TIM1 человека, TIM4 человека и TIM3 мыши.

После быстрого поиска домена IgV TIM-3 против всего геномного банка наиболее гомологичными молекулами были TIM1 и TIM4 (45% идентичности). Профилирование селективности TIM3.18.IgG1.3 с использованием TIM1 человека или трансфицированных TIM4 клеточных линий способом проточной цитометрии не выявило перекрестной реактивности с TIM1 или TIM4. С помощью проточной цитометрии на трансфицированных TIM3 мыши клетках также было показано, что TIM3.18.IgG1.3 не характеризуется перекрестной реактивностью к трансфицированным TIM-3 мыши клеткам.

Пример 6. Производство IFN- γ инфильтрирующими опухоль лимфоцитами (TIL) усиливается анти-

тeлaми к TIM3.

Чтобы дополнительно охарактеризовать антитела к TIM3 и идентифицировать те, которые с большей вероятностью обладают значительной стимулирующей активностью Т-клеток *in vivo*, разработали специфический анализ Т-клеток. Анализ измеряет количество IFN- γ , секретируемого из инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), выделенных из свежей опухолевой ткани и инкубированных в присутствии облученных клеток CHO, экспрессирующих CD3 ("клетки CHO-ОКТ3"), в присутствии антитела к TIM3 или в его отсутствие (или контроля). Без желания ограничиваться конкретным механизмом действия, секреция IFN- γ в присутствии данного антитела к TIM3 указывает на то, что антитело ингибирует отрицательную передачу сигналов, как правило, предоставляемую TIM3 на TIL, и стимулирует активацию (т.е. производство IFN- γ) TIL.

Свежую опухолевую ткань (включая в себя инфильтрирующие опухоль лимфоциты (TIL)) от пациента с почечно-клеточной карциномой получали при помощи ферментативного расщепления в виде одноклеточной суспензии (Miltenyi, № в каталоге 130-095-929). Жизнеспособность клеток составляла более 80%, как определено посредством анализа FACS. $1,5 \cdot 10^5$ клеток совместно культивировали в течение 5 дней с $2,5 \cdot 10^4$ облученными (67000 RAD в течение 1 ч 20 мин; облучатель Rad Source, RS-2000 Biological System). Клетки CHO-ОКТ3 в содержащей IL-2 среде (EL-2 (Peprotech, № в каталоге 200-02) в концентрации 20 МЕ/мл) в присутствии либо изотипического контрольного антитела, либо антитела к TIM3 в различных концентрациях. На 5-й день культивирования супернатант клеток собирали и оценивали содержание IFN- γ с помощью ELISA (набор ELISA BD Opteia hIFN γ , BD, № в каталоге 555152). Результаты, которые показаны на фиг. 16, указывают на то, что антитела к TIM3 13A3, 3G4, 17C3, 17C8 и 9F6 стимулируют производство IFN- γ клетками TIL почечно-клеточной карциномы.

Свежую опухолевую ткань от пациента с раком легкого расщепляли с помощью набора для ферментативного расщепления Miltenyi (Miltenyi, № в каталоге 130-095-929). Суспензию отдельных клеток совместно культивировали с облученными (67000 RAD в течение 1 ч 20 мин; облучатель Rad Source, RS-2000 Biological System) клетками CHO-ОКТ3 в содержащей IL-2 среде (IL-2 (Peprotech, № в каталоге 200-02) в концентрации 20 МЕ/мл) в присутствии изотипического контрольного антитела или антитела к TIM3 в различных концентрациях. На 5-й день культивирования клеточный супернатант собирали для анализа ELISA IFN- γ (набор ELISA BD Opteia hIFN γ , BD, № в каталоге 555152). Результаты, которые показаны на фиг. 17A, показывают, что исследованные антитела к TIM3 (т.е. 13A3 и 3G4) стимулируют производство IFN- γ клетками TIL рака легкого.

Кроме того, в день 3,5 совместного культивирования клеточной суспензии из опухолевой ткани рака легкого с облученными (67000 RAD в течение 1 ч 20 мин; облучатель Rad Source, RS-2000 Biological System) клетками CHO-ОКТ3, обработанными изотипическим контрольным антителом или антителом к TIM3 в присутствии IL-2, клетки инкубировали с BD GolgiStop в течение ночи. Затем клетки сначала окрашивали маркерами клеточной поверхности, CD45, CD4, CD8, TIM3 и PD1, а затем фиксировали и пермеабелизовали с помощью набора BD Cytofix/Cytoperm с последующим внутриклеточным окрашиванием IFN- γ . Результаты, которые показаны на фиг. 17B, показывают, что процент клеток, экспрессирующих IFN- γ , увеличивается в клетках CD8⁺ (нижняя панель) после обработки антителом к TIM3.

На фиг. 18 показаны объединенные данные из экспериментов с TIL множественных опухолей (выполненных, как описано выше в этом примере) в ответ на клоны антител к TIM-3 13A3 или 3G4 (т.е. каждая точка на фигуре представляет собой TIL из одного образца опухоли пациента, обработанного либо 13A3 или 3G4). Несколько TIL почечно-клеточной карциномы (RCC) и рака легких отвечали на антитело к TIM-3 в стимуляции производства IFN- γ , в то время как один препарат TIL из опухоли щитовидной железы этого не делал.

Пример 7. Основанное на анализе FACS перекрестное блокирование антител к TIM3.

Все человеческие Т-клетки выделяли из PBMC с использованием набора для очистки Т-клеток Miltenyi и активировали связанным с планшетом анти-CD3 (1 мкг/мл; клон ОКТ3 к CD3, eBioscience, № в каталоге 16-0037-85) и растворимым анти-CD28 (мкг/мл; клон CD28.2 к CD28, BD Biosciences, № в каталоге 555725) в течение 4 дней. TIM3 экспрессировался в >80% Т-клеток, как определено посредством анализа FACS. Т-клетки инкубировали с различными антителами к TIM3 в течение 30 мин с последующей инкубацией с выбранными мечеными биотином антителами к TIM3 в течение 30 мин и выделяли с помощью PE-конъюгированного стрептавидина. Результаты, которые показаны на фиг. 19, указывают на то, что антитела 13A3, 3G4, 17C3, 17C8 и 9F6 находятся в одной и той же группе сортировки (группа I), т.е. перекрестно конкурируют друг с другом, тогда как антитела 8B9 и 8C4 находятся в отдельной группе сортировки (группа II), т.е. не конкурируют с антителами в группе I, а конкурируют друг с другом. Было показано, что антитела в группе сортировки I обладают биологической активностью (см. примеры), тогда как антитела в группе сортировки II обладают более слабой активностью. Два антитела к TIM3, которые не вступали в перекрестную конкуренцию ни с группой I, ни с группой II, по-видимому, не обладали какой-либо биологической активностью. Антитела группы сортировки I также были теми, которые препятствовали связыванию TIM3 с PS (как описано дополнительно в настоящем документе).

Пример 8. Картирование эпитопов способом дрожжевого поверхностного дисплея.

Нуклеотидную последовательность, кодирующую внеклеточный домен TIM3 человека (NM_032782), т.е.

SEVEYRAEVLGQNAAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWVGKACPVFECGNWLRRTDERDVNYWTSRY-WLNGDFRKGDVSLTIENWLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVKPAKWPAPTRQRD-FTAAFPJVLTRGHGPAETQTLGSLPDINLTQISTLANELRDSRLANDLRDSGATIR IG, (SEQ ID NO: 290), клонировали в дрожжевой дисплей плазмиды PDV0023 путем лигирования в сайты ферментов рестрикции XhoI и NotI. Случайный мутагенез с низкой скоростью выполняли на последовательности для получения одноточечных мутаций в области кодирования TIM3 с использованием набора случайного мутагенеза GeneMorph II от Agilent Technologies. В клетках VWK18gal *S. cerevisiae* создавали библиотеку из $9,8 \times 10^6$ клонов. 2×10^8 клеток библиотеки пересевали и индуцировали для мечения антител и сортировки клеток. Приблизительно 2×10^7 индуцированных клеток инкубировали с 100 мМ первичного целевого антитела к TIM3 человека и 100 нМ антитела к сМус (9E10) в течение 1 часа при температуре 25°C. Клетки промывали, затем обнаруживали флуоресцентно меченым козым вторичным антителом к человеческому IgG-PE и козым вторичным антителом к мышинному IgG-A633 в течение 45 мин при температуре 4°C для обнаружения связанных первичных антител на клеточной поверхности. Меченые клетки сортировали на приборе BD FACSAria II в дрожжевую культуральную среду. Собирали клетки, которые были положительно помечены антителом к Мус и отрицательно помечены антителом к TIM3 человека. Популяцию клеток APC+/PE- экспансировали, пересевали и индуцировали для второго раунда идентичного мечения и сортировки для обогащения желаемых популяций. Дрожжевую плазмидную ДНК очищали из приблизительно 2×10^7 клеток из неотобранной библиотеки и обоих раундов отобранных отсортированных клеток. Для каждой клеточной популяции последовательность-мишень TIM3 извлекали и очищали из дрожжевой плазмидной ДНК с помощью ПЦР с использованием вектор-специфических праймеров, которые фланкируют последовательность TIM3 человека. Продукты ПЦР с последовательностью-мишенью подвергали получению библиотеки NGS с использованием набора библиотеки ДНК Nextera XT для секвенирования Illumina от Illumina. Полученные библиотеки отправляли в EA/Q2 Solutions для высокопроизводительного секвенирования на платформе MiSeq от Illumina с 300 циклами на проточную ячейку. От 0,5 до 1,0 миллиона считываний последовательностей для каждой библиотеки сравнивали с последовательностью TIM3 дикого типа, и мутации в каждом положении вдоль последовательности сводили в таблицу. Разницу в частоте мутаций в каждом положении остатка между выбранными циклами и невыбранной библиотекой рассчитывали и использовали для определения критических остатков для связывания антител. Положения с высокой частотой мутаций исследовали на предмет воздействия на поверхность с использованием структурной модели TIM3 человека, основанной на известных кристаллических структурах мышинного TIM3 (PDB: 20YP и PDB: 3B1B). Высокая частота мутаций, экспонированные на поверхности остатки считаются частью эпитопов, в то время как высокая частота мутаций, погруженные остатки считаются ложноположительными. Ложноположительные остатки, как правило, представляют собой остатки, которые нарушают либо локальное, либо внутреннее свертывание белка и опосредованно изменяют связывание антитела с его поверхностным эпитопом.

На фиг. 20 показаны остатки, которые определили как часть эпитопа TIM3 человека для каждого из использованных антител. Кроме того, D104 показывает положительный мутационный балл во всех картированиях и может представлять собой структурный солевой мостик к R81. Для эпитопа 8B9 L84 демонстрирует высокую частоту мутаций, хотя, по-видимому, погружен в структуру, поддерживающей остатки эпитопа. Q113 показывает низкий, но положительный балл для I3A3. Вероятно, он играет структурную поддерживающую роль эпитопной области, но характеризуется некоторым воздействием на поверхность.

Пример 9. Блокирование взаимодействия TIM3-PtdSer антителами к TIM3.

"Анализ тандемного блокирования", показанный на фиг. 21A, использовали для определения того, ингибируют ли антитела к TIM3 взаимодействие между TIM3 человека и фосфатидилсерин ("PtSer" или "PS"). Поскольку PS не растворим в воде, изготавливали PS-липосому для анализа. Вкратце, липиды смешивали с метанолом/хлороформом, а затем хлороформ выпаривали в потоке азота и вакууме в течение ночи. Впоследствии липиды обрабатывали ультразвуком с помощью микронаконечника, чтобы полностью диспергировать липид для создания липосомы. Затем их пропускали через экструдер >10 раз для обеспечения однородного размера.

PS-липосомы получают с помощью PS (L- α -фосфатидилсерина (головной мозг, свиньи) Avanti Polar Lipids, № в каталоге 840032C), суспендированного в хлороформе. Исходный PS сначала разбавляют в хлороформе до необходимого количества, и хлороформ выпаривают в потоке азота до тех пор, пока не будет видна жидкость. Для удаления следовых количеств хлороформа высушенный PS помещают в вакуум на ночь. Высушенный PS затем суспендируют в PBS с помощью вращения и краткой обработки ультразвуком, пока раствор не станет мутным. Для создания PS-липосом определенного размера используют экструдер с фильтром 100 нм. Суспендированный PS загружают в экструдер и пропускают через фильтр не менее 10 раз. В этот момент PS-липосому разводят в PBS до необходимой концентрации.

В "анализе тандемного блокирования" TIM3 (ECD)-Fc захватывали на биосенсоре Octet, и антитело

к TIM3 и PS-липосомы связывались с белком TIM3. Когда анти-TIM3 связывается с областью, которая блокирует связывание PS, PS-липосома не обнаруживает связывания.

Результаты, которые показаны на фиг. 21В, указывают на то, что антитела 3G4, 13A3, 17C3 и 17C8 ингибируют связывание PtSer с TIM3 человека, тогда как 2 других антитела к TIM3, т.е. AbA и AbB, не ингибируют связывание PtSer с TIM3 человека. Как дополнительно описано в примерах, антитела, которые ингибируют связывание PtSer, также представляют собой антитела, которые обладают наиболее сильной функциональной активностью (как определено в анализах Th1 и TIL).

Пример 10. Картирование эпитопа посредством HDX-MS антител к TIM3.

Масс-спектрометрию водородно-дейтериевого обмена (HDX-MS) использовали для зондирования связывающих эпитопов hTIM-3 с антителами 13A3 и 3G4.

HDX-MS зондирует конформацию белка и конформационную динамику в растворе, отслеживая скорость и степень обмена дейтерия с атомами водорода амида основной цепи [1, 2]. Уровень HDX зависит от доступности растворителя атомов водорода амида основной цепи и белковых водородных связей. Увеличение массы белка при HDX может быть точно измерено с помощью MS. Когда этот способ сочетается с ферментативным расщеплением, можно разрешить структурные особенности на уровне пептидов, что позволяет дифференцировать пептиды с открытыми для воздействия поверхностями от сложных внутрь или от секвестрированных на границе раздела белок-белкового комплекса. Как правило, проводят эксперименты по мечению дейтерием и последующему гашению с последующим ферментативным расщеплением, разделением пептидов и анализом MS.

Перед экспериментами по картированию эпитопов проводили эксперименты без дейтерирования для получения списка общих пептидов для рекомбинантного TIM-3 человека ((hTIM3-ECD (22-200) меченый His (см. фиг. 25); 10 мкМ, Sino Biological Inc.) и белковых комплексов hTIM-3 с Fab антител 13A3 и 3G4 (молярное соотношение 1:1). Образцы вводили в колонку фермента пепсина Waters Enzymate ВЕН (2,1×30 мм) и расщепляли в течение 3 мин при температуре 200°C. Охлаждающую камеру системы UPLC, в которой размещались все хроматографические элементы, поддерживали при температуре 0,0±0,1°C в течение всего времени измерений. Вводимые пептиды улавливали и обессоливали в течение 3 мин при скорости 100 мкл/мин и затем разделяли через 6 мин с помощью градиента ацетонитрил-вода 5-40% при скорости 65 мкл/мин. Разделительная колонка представляет собой колонку ACQUITY UPLC ВЕН C18 1,0 мм×50,0 (Waters). Идентификацию пептических пептидов осуществляли с помощью комбинации точного анализа массы и MSE с использованием ProteinLynx Global SERVER 2.5 (Waters) на системе Waters HDX-MS.

В эксперименте HDX-MS 5 мкл каждого образца (hTIM-3 или hTIM-3 с Fab антитела 13A3 или 3G4) разводили в 55 мкл буфера D₂O₂ (10 мМ фосфатный буфер, D₂O₂, pH 7,0), чтобы начать реакции мечения. Реакции проводили в течение разных периодов времени: 1, 10 и 240 мин. К концу каждого периода реакции мечения реакцию гасили путем добавления буфера для гашения (100 мМ фосфатный буфер с 4М GdnCl и 0,4 М ТСЕР, pH 2,5, 1:1, об./об.). 50 мкл гашенной пробы расщепляли онлайн, используя те же условия, что и в экспериментах без дейтерирования. Все сравнительные эксперименты проводили в идентичных экспериментальных условиях. Все эксперименты выполняли в двух повторах. Полученные относительные уровни дейтерия наносили на график в зависимости от времени обмена с использованием программного обеспечения DynamX 3.0™ (Waters).

Как показано на фиг. 25, охват последовательности 97,3% hTIM-3 получали в экспериментах HDX-MS. Как показано на фиг. 26, анализ данных HDX-MS hTIM-3 при связывании с Fab антител 13A3 и 3G4 выявил следующие прерывистые эпитопы:

моноклональное антитело 13A3: ⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 367), ¹¹¹RIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 368) и его фрагмент ¹¹⁹NDEKFNKL¹²⁷; и

моноклональное антитело 3G4: ⁴⁰YTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFE⁶² (SEQ ID NO: 369), ⁶⁶WLRTDERDVNY⁷⁷ (SEQ ID NO: 370), ⁷⁸WTSRYWLNDFRKGDVSL⁹⁵ (SEQ ID NO: 371) и ¹¹⁰CRIQIPGIMNDEKFNKL¹²⁷ (SEQ ID NO: 372).

На фиг. 26 показаны пептиды HDX-MS, с которыми связываются антитела 13A3 и 3G4, как определено с использованием протокола HDX-MS, описанного в этом примере.

Таким образом, антитело 13A3 взаимодействует с областями аминокислотных остатков 49-62 и 111-127 hTIM3, но существенно не взаимодействует с другими областями, такими как область, которая является N-концевой по отношению к аминокислотному остатку Y40 или V49, область, которая расположена между аминокислотными остатками E62 и R111, и область, которая является C-концевой по отношению к аминокислотному остатку L127. 13A3 связывается с петлей связывания фосфатидилсерина домена IgV TIM-3.

Пример 11. Окрашивание ИНС на мишени TIM3.18 при перекрестной реактивности тканей человека.

Иммуногистохимию (ИНС) проводили с 13A3 на замороженных срезах селезенки человека и яванского макака. У обоих видов 13A3 (0,5 мкг/мл) окрашивали эндотелий венозных синусоид. Как и ожидалось, антитело 3G4, которое не вступает в перекрестную реакцию с TIM-3 яванского макака, окрашивало селезенку человека, но не селезенку яванского макака.

В предварительном анализе перекрестной реактивности тканей, FITC-конъюгированное TIM3.18.IgG1.3 наносили на замороженные срезы или мазки из 20 типов нормальных тканей человека, которые включают в себя головной мозг, мозжечок, сердце, печень, легкое, почку, РВМС, селезенку, миндалину, тимус, кожу, толстую кишку, тонкую кишку, желудок, поджелудочную железу, периферический нерв, гипофиз, щитовидную железу, предстательную железу и плаценту (по 1 донору каждый). Специфическое окрашивание наблюдали в подмножестве мононуклеарных клеток (MNC) в РВМС, селезенке и миндалинах, а также в эпителиальных ретикулярных клетках или макрофагах в тимусе. Наиболее глубокое окрашивание было в макрофагальных/DC-подобных клетках, которые наблюдались в каждой исследованной ткани, включая в себя тканеспецифические макрофаги (например, клетки Купфера в печени, кожные макрофаги/DC в коже и клетки Хофбауэра в плаценте). На уровне органов наиболее сильное окрашивание было обнаружено в селезенке. Помимо небольших подмножеств MNC, сильное окрашивание очень часто наблюдалось в эндотелиальных клетках селезенки в красной пульпе. Кроме того, положительное окрашивание наблюдалось в небольшом подмножестве кортикальных канальцевых эпителиальных клеток в корковом слое почки.

Пример 12. Противоопухолевая активность комбинированных антител к TIM3 и PD-1 у мышей.

Коммерческие антитела крысы к TIM-3 (RMT3 23) и PD-1 (RMP1-14) мыши (Bio-X-Cell) оценивали на модели колоректальной опухоли CT26. Дизайн эксперимента был аналогичен ранее описанному исследованию *in vivo* в Ngiew et al. (2011) Cancer Res. 71:3540. Поскольку TIM-3 экспрессируется относительно поздно (день 15) в этой модели опухоли, небольшой объем опухолевых клеток (2×10^5) имплантировали в бок каждой мыши, так что рост опухоли будет минимальным, что даст время для экспрессии TIM-3. Когда опухоли стали ощутимыми на 8 день, мышей рандомизировали в 4 группы лечения по 10 мышей в каждой со средним объемом опухоли 40 мм³. RMT3-23 (антитело к TIM-3) и RMP1-14 (антитело к PD-1) вводили с помощью внутрибрюшинной инъекции в виде отдельных или комбинированных средств (250 мкг/на инъекцию каждого антитела); изотипический контроль вводили в дозе 500 мкг/инъекция. Каждое исследуемое животное получало 250 мкг одного антитела или 500 мкг из 2 комбинированных антител на каждую инъекцию и всего 3 дозы. Размер опухоли оценивали раз в две недели. Мыши в каждой группе, получавшие отдельные или комбинированные исследуемые изделия, проявляли противоопухолевую активность, у 2/10 мышей в группе монотерапии анти-PD-1 и 6/10 мышей в комбинированной группе анти-PD-1 и анти-TIM-3 остались без опухоли по окончании исследования (фиг. 24А). Предыдущее исследование CT26 того же дизайна дало аналогичные результаты: 3/10 мышей в группе монотерапии анти-PD-1 и 7/10 мышей в комбинированной группе анти-PD-1 и анти-TIM-3 характеризовались отсутствием опухолей. Противоопухолевая активность была незначительной или отсутствовала при введении анти-TIM-3 в качестве единственного средства.

Следует отметить, что значение EC50 связывания RMT3-23 с активированными мышинными Т-клетками составляет 1,7 нМ, что в 17 раз слабее, чем EC50 TIM3.18 для связывания с TIM-3 человека. Другое крысиное антитело к TIM-3 мыши (Ab M), которое перекрестно блокирует RMT3-23, характеризуется EC50 0,1 нМ в связывании с активированными мышинными Т-клетками, что эквивалентно EC50 TIM3.18. Как и RMT3-23, Ab M отображается на PS-связывающих петлях TIM-3 мыши. Использование этого антитела с константной областью тяжелой цепи mIgG1-D265A (Fc-инертный изотип) в опухолевой модели CT26 продемонстрировало, что оно усиливает противоопухолевый ответ на анти-PD-1 (фиг. 24В).

Пример 13. Анализ пролиферации Th1-клеток с помощью блокады антитела к TIM3 (полноразмерного или Fab).

Чтобы дополнительно охарактеризовать антитела к TIM3, разработали специфический анализ пролиферации Т-клеток с использованием *in vitro* поляризованных Th1-клеток. Поляризованные Th1-клетки получали путем многократной рестимуляции наивных CD4⁺ Т-клеток. Затем эти клетки инкубировали с облученными (с остановленным ростом) клетками CHO-ОКТ3 в присутствии антител к TIM3 (или контроля) и измеряли пролиферацию Th1-клеток.

Наивные CD4 Т-клетки поляризовали до подобных Th1-клеткам памяти Т-клеток следующим образом. Наивные CD4 Т-клетки очищали от РВМС с использованием набора для выделения наивных CD4 Т-клеток от Miltenyi. Клетки культивировали в течение 3-4 дней в IMDM/10% FBS в количестве $3,6 \times 10^5$ клеток/мл в присутствии: покрытых CD3/CD28 (80%/20%, соответственно) гранул в соотношении 1 гранула к 1 клетке; 10 нг/мл IL-2 человека; 1 нг/мл IL-12 человека и 10000 нг/мл антитела к IL-4 человека. После инкубации клетки собирали в пробирку, гранулы удаляли с помощью магнита и клетки возвращали в культуру в новой колбе. Рекомбинантный IL-2 человека добавляли до конечной концентрации 4 нг/мл, и клетки инкубировали в течение дополнительных 3 дней. Затем клетки собирали и промывали IX IMDM/10% FBS. Клетки подсчитывали, ресуспендировали в IMDM/10% FBS в количестве $4,1 \times 10^5$ клеток/мл и культивировали в течение 3-4 дней в присутствии: покрытых CD3/CD28 (80%/20%, соответственно) гранул в соотношении 1 гранула на 1 клетку; 10 нг/мл IL-2 человека; 1 нг/мл IL-12 человека и 10000 нг/мл антитела к IL-4 человека. После инкубации клетки собирали в пробирку, гранулы удаляли с помощью магнита и клетки возвращали в культуру в новой колбе.

Рекомбинантный IL-2 человека добавляли до конечной концентрации 4 нг/мл, и клетки инкубировали в течение дополнительных 2-3 дней. Затем поляризованные Th1-клетки собирали и промывали 3 раза. В день проведения анализа поляризованные Th1-клетки ресуспендировали в полной среде.

Использовали следующие реагенты:

Микрочастицы Dynabeads M-450 Epoxy	Dynal Biotech ASA	140.11
Натрий-фосфатный буфер в концентрации 100 мМ, pH 8,5	Teknova	0214-250
Клон UCNT-1 к hCD3 функц. класса	eBioscience	16-0038-85
Клон CD28.2 к hCD28 функц. класса	eBioscience	16-0289-85
Рекомбинантный IL-2 человека	PeptoTech, Inc.	200-02
Рекомбинантный IL-12 человека	PeptoTech, Inc.	200-12
Антитело к IL-4 человека	eBioscience	16-7048-85
Iscove's DMEM	Mediatech, Inc.	10-016-CM
Фетальная бычья сыворотка (инактивир. нагреванием)	Hyclone	SH30071.03

Клеточную линию CHO-ОКТ3 выращивали в шейкерных колбах и облучали (67000 RAD в течение 1 ч 20 мин; облучатель Rad Source, RS-2000 Biological System) в день проведения анализа. Облученные клетки CHO-ОКТ3 обеспечивали стимуляцию Т-клеток и экспонировали фосфатидилсерин (PS), что подтверждается окрашиванием аннексином V. TIM3.18.IgG1.3 или изотипический контроль титровали от 20 мкг/мл 4-кратными серийными разведениями, причем каждое условие устанавливали в трех повторах. Fab TIM3.18.IgG1.3 титровали от 53 мкг/мл также 4-кратным серийным разведением. Фрагмент Fab TIM3.18.IgG1.3 был таким же, который использовали в кристаллографическом эксперименте (см. примеры).

Культуры помещали в плоскодонные 96-луночные планшеты, обработанные TC (Costar) с 1×10^5 поляризованными Th1-клетками и $2,5 \times 10^4$ облученными клетками CHO-ОКТ3 (соотношение CHO:Т-клетки составляло 1:4) в 200 мкл полной среды на лунку в присутствии 0,1 мкг/мл анти-CD28 (клон CD28.2, BD Biosciences, № в каталоге 555725) и инкубировали в течение 3 дней при температуре 37°C и 5% CO₂. Затем планшеты импульсно обрабатывали с помощью 1 мкКи меченого тритием тимидина (Perkin Elmer, № в каталоге NET027001MC) на лунку в течение 16 ч, а затем клетки собирали на фильтровальные планшеты (Perkin Elmer) для анализа включения меченого тритием тимидина для оценки пролиферации.

Результаты, которые показаны на фиг. 29А и 29В, показывают, что антитело к TIM3 TIM3.18.IgG1.3 увеличивало пролиферацию Th1-клеток дозозависимым образом в анализе совместного культивирования клеток CHO-ОКТ3/Th1. Общая активность TIM3.18.IgG1.3 эквивалентна активности его исходного антитела 13А3 (изотип IgG4) (фиг. 29А). Fab-фрагмент TIM3.18.IgG1.3 также проявлял дозозависимую индукцию пролиферации (фиг. 29В) в анализе клеток CHO-ОКТ3/Th1.

Таким образом, TIM3.18.IgG1.3 (как полноразмерное, так и Fab) потенцировало активность Th1-клеток дозозависимым образом в совместной культуре с облученными клетками CHO-ОКТ3. Наличие активности с Fab-фрагментом указывало на то, что TIM3.18.IgG1.3 действует как антагонистическое антитело и что TIM-3 представляет собой ингибирующий рецептор для функции Т-клеток. Для биологической активности TIM3.18.IgG1.3 не требовалось перекрестного связывания Fc.

Пример 14. Анализ пролиферации Th1-клеток с одновременной блокадой TIM-3 и PD-1.

Этот анализ представлял собой совместную культуру облученных (рост остановлен; 67000 RAD в течение 1 ч 20 мин; облучатель Rad Source, RS-2000 Biological System) клеток CHO-ОКТ3, трансфицированных с PD-L1 человека (CHO-ОКТ3-PD-L1), и Th1-клеток в соотношении CHO:Т-клетки 1:4 в присутствии анти-CD28. Клеточную линию CHO-ОКТ3-PD-L1 выращивали в шейкерных колбах и облучали в день проведения анализа. Поляризованные Th1-клетки получали, как описано в других примерах, описанных в настоящем документе. В день проведения анализа поляризованные Th1-клетки ресуспендировали в полной среде.

Антитело к PD-1 ниволумаб титровали с 10 мкг/мл посредством 10-кратных серийных разведений, причем каждое условие устанавливали в трех повторах. Антитело к TIM3 TIM3.18.IgG1.3 или изотипический контроль добавляли в дозе 20 мкг/мл.

Культуры помещали в плоскодонные 96-луночные планшеты, обработанные TC (Costar) с 1×10^5 Th1-клеток и $2,5 \times 10^4$ клеток CHO-ОКТ3-PD-L1 в 200 мкл полной среды на лунку [в присутствии 0,1 мкг/мл анти-CD28 (клон CD28.2, BD Biosciences, № в каталоге 555725) и инкубировали в течение 3 дней при температуре 37°C и 5% CO₂. Затем планшеты импульсно обрабатывали с помощью 1 мкКи меченого тритием тимидина (Perkin Elmer, № в каталоге NET027001MC) на лунку в течение 16 ч, а затем клетки

собирали на фильтровальные планшеты (Perkin Elmer) для анализа включения меченого тритием тимидина для оценки пролиферации.

Результаты, которые показаны на фиг. 30, указывают на то, что антитело к PD-1 ниволумаб увеличивало пролиферацию Th1-клеток, стимулированных клетками CHO-ОКТ3-PD-L1, в зависимости от дозы, и что пролиферация была значительно усилена в комбинации с TIM3.18.IgG1.3. Совместная блокада путей TIM3 и PD-1 показала аддитивный эффект в этом анализе.

Пример 15. Анализ высвобождения IFN- γ из инфильтрирующих опухоли лимфоцитов с блокировкой TIM3.18.IgG1.3.

Для этого анализа свежие опухолевые ткани получали из хирургически удаленного образца почечно-клеточной карциномы человека или образца рака молочной железы. Инфильтрирующие опухоли лимфоциты (TIL) выделяли с использованием набора для ферментативной диссоциации (Miltenyi, № в каталоге 130-095-929). TIL дополняли 20 МЕ/мл IL-2 (рекомбинантный человеческий IL-2, Peprotech, № в каталоге 200-02) и совместно культивировали с облученными (рост остановлен; 67000 RAD в течение 1 ч 20 мин; облучатель Rad Source, RS-2000 Biological System) клетками CHO-ОКТ3 в соотношении CHO:T-клетки 1:6. Клеточную линию CHO-ОКТ3 выращивали в шейкерных колбах и облучали в день проведения анализа.

Антитело к TIM-3 TIM3.18.IgG1.3 или изотипический контроль титровали от 20 мкг/мл посредством 4-кратных серийных разведений, причем каждое условие устанавливали в трех повторах. Культуры помещали в плоскодонные 96-луночные планшеты, обработанные TC (Costar), с $1,5 \times 10^5$ T-клеток и $2,5 \times 10^4$ облученных клеток CHO-ОКТ3 в 200 мкл на лунку в IMDM+5% FBS и 5% человеческого сывороточного АВ (Gemini, № в каталоге 100-512) и инкубировали в течение 5 дней при температуре 37°C и 5% CO₂. Супернатант собирали из каждого образца для измерения IFN- γ с помощью ELISA (набор ELISA BD Opteia hIFN- γ , BD, № в каталоге 555152).

Результаты, которые показаны на фиг. 31 для TIL почечно-клеточной карциномы и на фиг. 32 для TIL рака молочной железы указывают на то, что TIM3.18.IgG1.3 увеличивало производство IFN- γ дозозависимым образом в анализе совместного культивирования CHO-ОКТ3/TIL с увеличением в 4 раза по сравнению с отрицательными контролями при более высоких концентрациях TIM3.18.IgG1.3 в анализе TIL почечно-клеточной карциномы.

Пример 16. TIM3.18.IgG1.3 стимулирует секрецию IFN- γ в M0:T аллогенном анализе MLR.

Выделенные моноциты CD14⁺ от здоровых доноров дифференцировали до стадии M0 в культуральной среде, содержащей M-CSF. После 6-го дня в культуре значительная популяция макрофагов экспрессировала CD163⁺ и CD206⁺ на клеточной поверхности при окрашивании посредством FACS, что согласуется с признаком супрессивных макрофагов. С помощью проточной цитометрии с антителом к TIM-3 было показано, что TIM-3 экспрессируется в макрофагах M0 (фиг. 33). Затем эти макрофаги M0 облучали (5000 RAD в течение 7 мин; облучатель Rad Source, RS-2000 Biological System) и совместно культивировали с суммарными T-клетками аллогенного донора, и на 6-й день после совместного культивирования смешанные клетки подвергали импульсной обработке ³H-тимидином в течение ночи для оценки пролиферации T-клеток.

Результаты, которые показаны на фиг. 34, указывают на то, что TIM3.18.IgG1.3 увеличивал пролиферацию T-клеток по сравнению с изотипическим контролем.

Пример 17. Кристаллическая структура Fab TIM3.18.IgG1.3, взаимодействующего с hTIM3.

Область IgV hTIM3 совместно кристаллизовали с Fab-фрагментом TIM3.18 следующим образом. Использовали следующие последовательности:

hTim3_IgV:

HHHHHSAALEVLFQGPSEVEYRAEVGQNAAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWKGKACPVFECGNV
 LRTDERDVNYWTSRYWLNDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNKLVIK
 A (SEQ ID NO: 377; последовательность TIM3 подчеркнута)

Tim3.18_Fab:

QLQLQESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKLEWIGSIYYSGFTYYQPS
 LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFEPWQGLTVTVSSASTKG
 PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCGGHHHHHH (SEQ ID NO: 366)

Tim3.18_kappa:

EIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFS
 GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQGRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
 GTASVVCLLNLFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLSKADYEKHKV
 YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 29)

Экспрессия и очистка. Маркированный гистидином домен IgV hTim3 экспрессировали в E.Coli (BL21 DE3) с вектором pET47b. Очистку и повторную укладку проводили в соответствии с опубликованным протоколом для mTim3 (DeKruyff et al. J. Immunology 2010). Fab Tim3.18 временно экспрессировали в клетках HEK293 и очищали через С-концевой His-маркер на тяжелой цепи.

Кристаллизация комплекса и определение структуры. Кристаллическую структуру домена IgV hTim3 с Fab Tim3.18 различали до 1,5Å. Комплекс Fab:антиген сначала подвергали скринингу на условия кристаллизации с помощью различных скринингов от Hampton Research, и кластеры кристаллов наблюдали в условиях с PEG 3350 с pH в диапазоне от 6,5 до 5,5. Условия роста кристаллов дополнительно оптимизировали для обеспечения роста монокристаллов. Монокристаллы собирали с глицерином в качестве криопротектора и мгновенно замораживали в жидком азоте. Сбор данных проводили в IMCA-CAT в APS с использованием детектора Pilatus-6M. Дифракционные изображения обрабатывали с помощью программного обеспечения Global Phasing и фазировали с использованием Fab-модели Tim3.18. Многочисленные усовершенствования проводили с использованием пакета CCP4, программного обеспечения Coot, Phenix и Global Phasing.

Разрешенный домен IgV hTim3 хорошо соответствует домену опубликованной структуры hTim3 (PDB: 5F71; worldwideweb.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?pdbId=5F71), а также структуре mTim3 (PDB: 3KAA; worldwideweb.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=3kaa; Rosemarie et al. (2010) J Immunol 184:1918), которую разрешали в комплексе с PS. Связывающий карман PS в hTim3 выводили из этих структурных выравниваний. Кроме того, местоположение связывающего PS кармана является консервативным среди представителей TIM у человека и мыши (Freeman et al. (2010) Immunol Rev. 235: 172).

Контактирующие остатки для TIM3.18 на белке hTim3 идентифицировали путем вычисления разницы в доступной площади поверхности между кристаллической структурой Fab hTIM3:TIM3.18 и только структурой hTIM3 ("способ определения погруженных поверхностей"). Остатки hTIM3, которые показывают площадь контактной поверхности при комплексообразовании с Fab TIM3.18, определяли как часть контактирующих остатков. Доступную для растворителя поверхность белка определяли как locus центра зондовой сферы (представляющей молекулу растворителя радиусом 1,4Å), когда он катится над Ван-дер-Ваальсовой поверхностью белка. Площадь поверхности, доступную для растворителя, рассчитывали путем создания точек поверхности на протяженной сфере вокруг каждого атома (на расстоянии от центра атома, равного сумме радиусов атома и зонда) и исключения точек, лежащих в эквивалентных сферах, связанных с соседними атомами, реализованные в программе AREAIMOL (http://www.ccp4.ac.uk/newsletters/newsletter38/03_surfarea.html).

Результаты, которые показаны на фиг. 35 и 36, показывают, что следующие аминокислоты представляют собой контактирующие остатки, как определено вышеописанным способом определения погруженных поверхностей: P29, V30, C31, P38, V39, F40, E41, C42, G43, N44, V45, V46, L47, R48, T49, D50, E51, D53, R90, Q92, G95, I96, M97, D99 (нумерация согласно SEQ ID NO: 290, которая представляет собой внеклеточный домен зрелого hTIM3) или P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, Q113, G116, I117, M118, D120 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20), которая представляет собой hTIM3 с сигнальным пептидом). Эти результаты показывают, что контактирующие остатки TIM3.18.IgG1.3 на TIM3 человека перекрываются с карманом связывания PS на TIM3 человека. Конкретно, CDR2 тяжелой цепи от TIM3. 18 занимает карман связывания PS. Дополнительные контакты с петлями связывания PS осуществляются CDR1 и CDR3 тяжелых цепей. Полученные в настоящем документе структурные данные подтверждают результаты, полученные в анализе заблокиро-

вания PS (см. примеры).

Результаты кристаллографии также показывают, что следующие аминокислотные остатки hTIM3 содержат атом, который находится в пределах 5Å от атома аминокислотного остатка ("способ расстояния 5Å") из Fab TIM3.18: P29 V30, C31, P38, V39, F40, E41, C42, G43, N44, V45, V46, L47, R48, D50, E51, D53, R90, I91, Q92, G95, I96, M97, D99 (нумерация согласно SEQ ID NO: 290, который представляет собой зрелый внеклеточный домен hTIM3) или P50, V51, C52, P59, V60, F61, E62, C63, G64, N65, V66, V67, L68, R69, D71, E72, D74, R111, I112, Q113, G116, I117, M118, D120 (нумерация по SEQ ID NO: 286 (фиг. 20), которая представляет собой hTIM3 с сигнальным пептидом). Конкретные взаимодействующие остатки белка Fab и hTIM3 представлены в табл. 3.

Таблица 3

Перечень остатков TIM3 человека, взаимодействующих с остатками Fab

<u>Остаток</u>	<u>Антитело Tim3.18</u>		
<u>Tim3</u>	<u>тяжелая/легкая цепь</u>	<u>№ остатка</u>	<u>тип остатка</u>
29(PRO)	H/	56	(SER)
	H/	57	(GLY)
	H/	58	(PHE)
30(VAL)	H/	56	(SER)
	H/	58	(PHE)
31(CYS)	H/	58	(PHE)
	H/	55	(TYR)
38(PRO)	H/	106	(TYR)
39(VAL)	H/	60	(TYR)
	H/	106	(TYR)
	L/	92	(TYR)
	L/	93	(GLY)
	L/	94	(SER)
	L/	95	(SER)
40(PHE)	H/	49	(TRP)
	H/	54	(TYR)
	H/	60	(TYR)
	H/	106	(TYR)
	H/	108	(HIS)
	L/	95	(SER)
	L/	97	(ILE)
41(GLU)	H/	54	(TYR)
	H/	55	(TYR)
	H/	56	(SER)
	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)
	H/	103	(TYR)
42(CYS)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)

43(GLY)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
	H/	105	(ASP)
	H/	106	(TYR)
44(ASN)	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
	H/	105	(ASP)
45(VAL)	H/	32	(ARG)
	H/	33	(SER)
	H/	55	(TYR)
	H/	103	(TYR)
	H/	104	(GLY)
46(VAL)	H/	32	(ARG)
47(LEU)	H/	32	(ARG)
	H/	35	(TYR)
48(ARG)	H/	30	(SER)
	H/	31	(SER)
	H/	32	(ARG)
	H/	55	(TYR)
50(ASP)	H/	55	(TYR)
	H/	56	(SER)
51(GLU)	H/	30	(SER)
53(ASP)	H/	32	(ARG)
90(ARG)	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)
91(ILE)	H/	58	(PHE)
92(GLN)	H/	57	(GLY)
	H/	58	(PHE)
	H/	59	(THR)
	H/	60	(TYR)
95(GLY)	H/	66	(LYS)
96(ILE)	H/	66	(LYS)
97(MET)	H/	66	(LYS)
99(ASP)	H/	58	(PHE)
	H/	60	(TYR)

Сравнение аминокислотных остатков, идентифицированных обоими способами, показывает, что остатки являются по существу одинаковыми, за исключением остатка T49, который идентифицируется только способом определения погруженных поверхностей, и остатка I91, который идентифицируется только "способом расстояния 5 Å".

Пример 18. Дополнительные характеристики TIM3.18.IgG1.3.

Биофизические характеристики TIM3.18.IgG1.3, экспрессируемого в клетках CHO, представлены в табл. 4.

Таблица 4
Биофизические характеристики TIM3.18.IgG1.3

Свойство	Способ	Результаты
Идентификация	Пептидная карта LC-MS/MS	Дегликозилированная MM = 145619 Да (как и было предсказано) Дегликозилированная, восстановленная и алкилированная HC = 50068 Да Агликозилированная, восстановленная и алкилированная LC = 23683 Да > 99% последовательности и дисульфидная структура подтверждена пептидным картированием и масс-спектрометрией
Чистота/гомогенность	CE-SDS	На 95,1% мономер, примеси включают в себя 2,9% NHL, 0,9% HL, 0,5% NH, 0,6% LC; негликозилированная тяжелая цепь 2,1%
	SEC	На 98,5% мономер
	SE-MALS	99,94% (150 кДа), 0,06% (322 кДа)
	HIC-HPLC	92% основной пик, 1% пик перед основным пиком, 7% пик после основного пика
Химические модификации	CE (гликаны)	GOF (79,3%), GIF (12,2%), G2F (0,7%), Man5 (6,8%), GO (0,9%).
	cIEF	Основной пик pI = 8,6, диапазон pI 8,17-8,66
	LC-MS/MS пептидная карта	Очень низкие
Термостабильность и обратимость	DSC (растворен. в буфере хранения)	Tm1 = 68,1°C, Tm2 = 80,3°C, Tm3 = 82,6°C Обратимость при 74°C = 96%, при 80°C = 26%

Единственный сайт N-гликозилирования подтверждали в N297 на тяжелой цепи с гликановым профилем, который согласуется с гликановым профилем экспрессируемых CHO моноклональных антител IgG1. TIM3.18.IgG1.3 не связывается с CD16, CD32 или CD64, что указывает на его инертность к любой опосредованной Fc-FcR эффекторной функции. TIM3.18.IgG1.3 характеризуется хорошей термической стабильностью (Tm1=68,1°C, Tm2=80,3°C, Tm3=82,6°C) и термической обратимостью (95,6% при 74°C, 25,5% при 80°C), что предполагает, что молекула сохраняет свою структурную целостность при тепловом стрессе и обладает надежными свойствами рефолдинга при снятии стресса.

Характеристики стабильности TIM3.18.IgG1.3 представлены в табл. 5.

Таблица 5
Стабильность TIM3.18.IgG1.3

Свойство	Способ(ы)	Результаты
Замораживание/отогрев (1 ч @ -80°C, 1 ч @ RT×6)	UV, SEC	Не выявлено риска стабильности при замораживании/отогреве
Профиль растворимости/концентрации	UV, SEC	По меньшей мере 60 мг/мл
Стабильность «ускоренного старения» 50 мг/мл 12 нед. @ 4°C, 25°C и 40°C в составе платформ	способом SEC, DLS, HIC, cIEF, пептидное картирование LC-MS/MS	12 нед. @ 40°C = ускорение 2%/месяц в LMW 12 нед. @ 40°C < 1% ускорение в HMW 12 нед. @ 40°C = ускорение 18%/месяц в кислотных вариантах

Не было проблем с физической стабильностью во время стресса при замораживании-оттаивании (6 циклов) при 50 мг/мл. Исследования принудительной деградации при 50 мг/мл были проведены при температурах 4, 25 и 40°C. Никаких химических модификаций в области CDR не наблюдалось в течение 12 недель ни при каких условиях.

Потенциальный риск иммуногенности TIM3.18.IgG1.3 оценивали способами *in silico*. Анализ iDAB *in silico* TIM3.18.IgG1.3 показал мало потенциальных HLA-связывающих последовательностей в CDR этого моноклонального антитела, что указывает на низкий риск индукции иммунного ответа человека.

Пример 19. PK/PD TIM3.18.IgG1.3 у обезьян.

В однократном исследовании PK/PD и переносимости всех обезьян иммунизировали внутримышечно 2,5 мг векторов гемоцианина лимфы улитки (KLH) и непролиферативного рекомбинантного аденовируса-5 (Ad5), экспрессирующих белки Nef и Gag вируса обезьяньего иммунодефицита (SIV) (3×10^9 каждого вектора). После иммунизации обезьянам вводили внутривенно TIM3.18.IgG1.3 в дозах 0 (напол-

нитель), 0,5, 10 или 25 мг/кг (N = 3/группа; смешанный пол). Образцы сыворотки собирали в течение срока до 42 дней для оценки фармакокинетики (PK) и антител к лекарственному средству (ADA), а образцы крови собирали в течение срока до 42 дней для оценки занятости рецептора. Дополнительные образцы сыворотки резервировали для других конечных точек исследования, включая в себя содержание растворимых TIM-3.

AUC_{0-168h} была пропорциональна дозе от 0,5 до 25 мг/кг. TIM3.18.IgG1.3 продемонстрировал T_{1/2} приблизительно 2 недели и общий клиренс сыворотки 0,18 мл/ч/кг. Объем распределения в стационарном состоянии варьировал от 68 до 84 мл/кг, что позволяет предположить, что TIM3.18.IgG1.3 преимущественно находится во внеклеточном пространстве (табл. 6).

Таблица 6

Фармакокинетические параметры TIM3.18.IgG1.3 после внутривенного введения яванским макакам

Исследования	Количество обезьян	Доза (мг/кг)	AUC(0-INF) (мкМ×ч)	T _{1/2} (ч)	CLT (мл/ч/кг)	V _{ss} (мл/кг)
	3	0,5	NC	NC	NC	NC
DT16095	3	10	358 ± 90*	337 ± 91	0,19 ± 0,047	84 ± 3,8
	3	25	1076 ± 324	321 ± 104	0,17 ± 0,053	68 ± 7,4

* Экстраполированная AUC превысила 20% предела и варьировала от 21 до 55%.

На основе PK у яванских макаков и аллометрической шкалы, прогнозируемый общий клиренс сыворотки крови человека составляет 0,10 мл/ч/кг, а V_{ss} - 88 мл/кг. В результате прогнозируемый период полужизни у человека составляет приблизительно 26 дней.

Пример 20. Предварительный анализ высвобождения цитокинов.

Чтобы определить, вызывает ли обработка TIM3.18.IgG1.3 риск синдрома высвобождения цитокинов, цельную кровь от 16 доноров-людей инкубировали с 20 мкг/мл TIM3.18.IgG1.3 или положительного контроля в растворе. Панель из 75 сывороточных цитокинов и хемокинов исследовали для каждого донора. Не было никаких свидетельств увеличения высвобождения происходящих от Т-клеток цитокинов или хемокинов, что свидетельствует о низком риске синдрома высвобождения цитокинов. В анализах цельной крови от некоторых доноров наблюдалось повышение содержания IL-1β, IL-6, IL-10, TNF-α и G-CSF, что согласуется с данными, представленными выше, что блокада TIM-3 увеличивает производство происходящих от моноцитов или макрофагов цитокинов.

Пример 21. TIM3.18.IgG1.3 не вызывает подавления или интернализации рецепторов.

Чтобы определить, подавляет или интернализует ли 13A3 человеческий TIM3 на клеточной мембране при связывании с ней, проводили исследование гашения флуоресценции, показанное на фиг. 37. Результаты после 3-часовой обработки, которые показаны на фиг. 38, указывают на то, что ни антитело 13A3, ни варианты D101E или N60Q не вызывали дозозависимого накопления внутриклеточного антитела TIM3 в активированных донорных CD8+ Т-клетках, что свидетельствует о том, что антитело не интернализуется.

Для определения потенциальной понижающей регуляции активированные донорные CD8+ Т-клетки инкубировали в течение 2 часов в присутствии различных количеств 13A3, 13A3.D101.Ig1.1f, 13A3.D101E/N60Q.IgG1.1f или контрольного антитела или в отсутствие антитела, и определяли количество TIM3 на поверхности клетки. Результаты показали, что инкубация с антителами к TIM3 не подавляла TIM3 клеточной поверхности.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело, которое связывается с человеческим белком-3, содержащим Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина (TIM3), содержащее CDR1 тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 41, CDR2 тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 122; CDR3 тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 126; CDR1 легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 64; CDR2 легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 66, и CDR3 легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 68.

2. Антитело по п.1, содержащее вариабельную область тяжелой цепи (VH) и вариабельную область легкой цепи (VL), где VH содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 364, и VL содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 60.

3. Антитело по п.1 или 2, причем антитело выбирают из группы, состоящей из IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

4. Антитело по любому из пп.1-3, содержащее Fc IgG1 без эффекторных функций.

5. Антитело по п.1, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 349, и легкая цепь содержит аминокис-

лотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29.

6. Антитело по п.1, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 351, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29.

7. Антитело по п.1, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 353, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29.

8. Антитело по п.1, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 350, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29.

9. Антитело по п.1, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 352, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29.

10. Антитело по п.1, содержащее тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 354, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 29.

11. Композиция для лечения рака, содержащая антитело по любому из пп.1-10, и носитель.

12. Биспецифическая молекула, содержащая антитело по любому из пп.1-10, связанное с молекулой, характеризующейся второй специфичностью связывания.

13. Нуклеиновая кислота, кодирующая переменную область тяжелой и легкой цепи антитела по любому из пп.1-10.

14. Вектор экспрессии, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п.13.

15. *In vitro* клетка-хозяин, трансформированная вектором экспрессии по п.14.

16. Клетка-хозяин, содержащая нуклеиновую кислоту, кодирующую переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи антитела по любому из пп.1-10.

17. Иммуноконъюгат для лечения рака, содержащий антитело по любому из пп.1-10, связанное со средством, которое содержит обнаруживаемую метку и/или терапевтическое средство.

18. Иммуноконъюгат по п.17, причем обнаруживаемая метка включает радиоизотоп, фермент, флуоресцентную метку или любую их комбинацию.

19. Иммуноконъюгат по п.17, причем терапевтическое средство включает антиметаболит, алкилирующее средство, связующее вещество для малых бороздок ДНК, интеркалятор ДНК, ДНК-сшиватель, ингибитор гистондеацетилазы, ингибитор ядерного экспорта, ингибитор протеасом, ингибитор топоизомеразы I или II, ингибитор белков теплового шока, ингибитор тирозинкиназы, антибиотик, антимиотическое средство или любую их комбинацию.

20. Способ получения антитела к TIM3, предусматривающий экспрессию антитела в клетке по п.16 и выделение антитела из клетки.

21. Способ стимуляции иммунного ответа у субъекта, предусматривающий введение субъекту антитела по любому из п.п.1-10, биспецифической молекулы по п.12 или иммуноконъюгата по любому из пп.17-19.

22. Способ ингибирования роста опухолей или уменьшения размера опухолей у субъекта, предусматривающий введение субъекту антитела по любому из пп.1-10, биспецифической молекулы по п.12 или иммуноконъюгата по любому из пп.17-19.

23. Способ лечения рака, предусматривающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества антитела по любому из пп.1-10, биспецифической молекулы по п.12 или иммуноконъюгата по любому из пп.17-19.

24. Способ по п.23, в котором рак выбран из группы, состоящей из рака мочевого пузыря, рака молочной железы, рака матки/шейки матки, рака яичника, рака простаты, рака яичка, рака пищевода, рака желудочно-кишечного тракта, рака поджелудочной железы, колоректального рака, рака толстой кишки, рака почки, рака головы и шеи, рака легких, рака желудка, герминогенного рака, рака кости, рака печени, рака щитовидной железы, рака кожи, новообразования центральной нервной системы, лимфомы, лейкоза, миеломы, саркомы и рака, связанного с вирусом.

25. Способ по п.23 или 24, в котором рак представляет собой метастатический рак, рефрактерный рак или рецидивирующий рак.

26. Способ по любому из пп.22-25, дополнительно предусматривающий введение одного или нескольких дополнительных терапевтических средств.

27. Способ по п.26, при котором дополнительное терапевтическое средство представляет собой антитело к PD-1, антитело к LAG-3, антитело к CTLA-4, антитело к GITR или антитело к PD-L1.

VH1 13A3 к TIM-3

сегмент V: 4-39

сегмент D: 4-17

сегмент J: JH5b

```

1      Q L Q L Q E S G P G L V K P S E T
      CAG CTG CAG CTG CAG GAG TCG GGC CCA GGA CTG GTG AAG CCT TCG GAG ACC

      L S L T C T V S G G S I S S R S Y
52     CTG TCC CTC ACC TGC ACT GTC TCT GGT GGC TCC ATC AGC AGT AGA AGT TAC
      CDR1
      Y W G W I R Q P P G K G L E W I G
103    TAC TGG GGC TGG ATC CGC CAG CCC CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG ATT GGG
      CDR2
      S I Y Y S G F T Y Y N P S L K S R
154    AGT ATC TAT TAT AGT GGG TTC ACC TAC TAC AAC CCG TCC CTC AAG AGT CGA

      V T I S V D T S K N Q F S L K L S
205    GTC ACC ATA TCC GTT GAC ACG TCC AAG AAC CAG TTC TCC CTG AAG CTG AGC

      S V T A A D T A V Y Y C A T G G P
256    TCT GTG ACC GCC GCA GAC ACG GCT GTG TAT TAT TGT GCG ACA GGG GGG CCC
      CDR3
      Y G D Y A H W F D P W G Q G T L V
307    TAC GGT GAC TAC GCC CAC TGG TTC GAC CCC TGG GGC CAG GGA ACC CTG GTC

      T V S S
358    ACC GTC TCC TCA

```

Фиг. 1А

VK1 13A3 к TIM-3

сегмент V: A27

сегмент J: JK5

```

1      E I V L T Q S P G T L S L S P G E
      GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      _CDR1_
52     R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

      _CDR2_
103    A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
      GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      _CDR3_
154    A S S R A T G I P D R F S G S G S
      GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

205    G T D F T L T I S R L E P E D F A
      GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

256    V Y Y C Q Q Y G S S P I T F G Q G
      GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG ATC ACC TTC GGC CAA GGG

307    T R L E I K
      ACA CGA CTG GAG ATT AAA

```

Фиг. 1B

13A3 _NT_VH1

```

ATGAAGCACCTGTGGTCTTCCTCCTGCTGGTGGCGGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGCTGCAGCTGCAGGAG
TCGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCAGTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAGT
AGAAGTTACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGTATCTATTATAGT
GGGTTCACCTACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCCGTTGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCC
CTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGACAGACCGGCTGTGTATTATTGTGCGACAGGGGGGCCCTACGGTGACTAC
GCCCACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA

```

13A3 _AA_VH1

```

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWRQPPGKLEWIGSIYYS
GFTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQTLVTVSS

```

13A3 _NT_VK1

```

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGACGAGTATGGTAGCTCACCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTG
GAGATTAAA

```

13A3 _AA_VK1

```

METPAQLLEFLLLLWLPDPTTGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPITFGQTRLEIK

```

Фиг. 1C

VH1 8B9 к TIM-3

сегмент V: 4-59

сегмент D: 4-17

сегмент J: JH6b

```

1      Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T
      CAG GTG CAG CTG CAG GAG TCG GGC CCA GGA CTG GTG AAG CCT TCG GAG ACC

52      L S L T C T V S G G S I S R H Y W
      CTG TCC CTC ACC TGC ACT GTC TCT GGT GGC TCC ATC AGT CGT CAC TAC TGG
      CDR1
103     N W I R Q P P G K G L E W I G Y I
      AAC TGG ATC CGG CAG CCC CCA GGG AAG GGA CTG GAG TGG ATT GGG TAT ATC
      CDR2
154     H Y S G S T N Y N S S L K S R V T
      CAT TAC AGT GGA AGC ACC AAC TAC AAT TCC TCC CTC AAG AGT CGA GTC ACC

205     I S V D T S K N Q F S L K L S S V
      ATA TCA GTA GAC ACG TCC AAG AAC CAG TTC TCC CTG AAG CTG AGC TCT GTG

256     T A A D T A V Y Y C A R D T G Y Y
      ACC GCT GCG GAC ACG GCC GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT ACT GGG TAC TAC
      CDR3
307     G M D I W G Q G T T V T V S S
      GGT ATG GAC ATC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA

```

Фиг. 2А

VK1 (hKappa) 8B9 к TIM-3

сегмент V: A27

сегмент J: JK4

```

1      E I V L T Q S P G T L S L S P G E
      GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

52      R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA
      CDR1
103     A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
      GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT
      CDR2
154     A S S R A T G I P D R F S G S G S
      GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

205     G T D F T L T I S R L E P E D F A
      GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

256     V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G
      GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCT CTC ACT TTC GGC GGA GGG
      CDR3
307     T K V E I K
      ACC AAG GTG GAG ATC AAA

```

Фиг. 2В

8B9 NT_VH1

ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCAGGTGCAGCTGCAGGAG
 TCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCGT
 CACTACTGGAAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACAGTGGAGC
 ACCAACTACAATTCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAG
 CTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGATTACTGTGCGAGAGATACTGGGTACTACGGTATGGACATC
 TGGGGCCAAGGGACCACGGTACCGTCTCCTCA

8B9_AA_VH1

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKLEWIGYIHYSGS
 TNYNSSLKRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGTITVTVSS

8B9_NT_VK1

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTGACG
 CAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGC
 AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
 GCCACTGGCATCCAGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
 CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGTCCACTCTCACTTTTCGG
 CGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

8B9_AA_VK1

METPAQLLFLLLLWLDPDTTGEIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
 ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPLTFGGGTKEIK

Фиг. 2С

VH1 8C4 к TIM-3

сегмент V: 4-59

сегмент D: 4-17

сегмент J: JH6b

1	Q	V	Q	L	Q	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T
	CAG	GTG	CAG	CTG	CAG	GAG	TCG	GGC	CCA	GGA	CTG	GTG	AAG	CCT	TCG	GAG	ACC
52	L	S	L	T	C	T	V	S	G	G	S	I	S	R	Y	Y	W
	CTG	TCC	CTC	ACC	TGC	ACT	GTC	TCT	GGT	GGC	TCC	ATC	AGT	CGT	TAC	TAC	TGG
103	S	W	I	R	Q	P	P	G	K	G	L	E	W	I	G	Y	I
	AGC	TGG	ATC	CGG	CAG	CCC	CCA	GGG	AAG	GGA	CTG	GAG	TGG	ATT	GGG	TAT	ATC
154	H	Y	T	G	S	T	N	Y	N	P	S	L	K	S	R	V	T
	CAT	TAC	ACT	GGG	AGC	ACC	AAC	TAC	AAC	CCC	TCC	CTC	AAG	AGT	CGA	GTC	ACC
205	I	S	V	D	T	S	K	N	Q	F	S	L	K	L	S	S	V
	ATA	TCA	GTA	GAC	ACG	TCC	AAG	AAC	CAG	TTC	TCC	CTG	AAG	CTG	AGC	TCT	GTG
256	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	A	T	D	T	G	Y	
	ACC	GCA	GCG	GAC	ACG	GCC	GTG	TAT	TAC	TGT	GCG	ACA	GAT	ACG	GGC	TAC	
307	Y	G	M	D	V	W	G	Q	G	T	T	V	T	V	S	S	
	TAC	GGT	ATG	GAC	GTC	TGG	GGC	CAA	GGG	ACC	ACG	GTC	ACC	GTC	TCC	TCA	

Фиг. 3А

VK1 8C4 κ TIM-3

сегмент V: A27

сегмент J: JK4

```

      E I V L T Q S P G T L S L S P G E
1    GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      CDR1
52   R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

      A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
103  GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      CDR2
154  A S S R A T G I P D R F S G S G S
      GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

      G T D F T L T I S R L E P E D F A
205  GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

      CDR3
256  V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G
      GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG CTC ACT TTC GGC GGA GGG

      T K V E I K
307  ACC AAG GTG GAG ATC AAA

```

Фиг. 3B

8C4_NT_VH1

```

ATGAAACATCTGTGGTCTTCCTCTCCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCTGTCCCAGGTGCAGCTGCAGGAG
TCGGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCAGTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTCTGT
TACTACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCCCAGGGAAGGACTGGAGTGGATTGGGTATATCCATTACACTGGGAGC
ACCAACTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCTCAAGAACCAGTCTCCCTGAAG
CTGAGCTCTGTGACCCGACGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGACAGATACGGGCTACTACGGTATGGACGTC
TGGGGCCAAGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

```

8C4_AA_VH1

```

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRYYSWIRQPPGKLEWIGYIHYTGS
TNYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATDTGY YGMDVWGQGT TTVTVSS

```

8C4_NT_VK1

```

ATGGAACCCAGCGCAGCTTCTCTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTCACCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTG
GAGATCAAA

```

8C4_AA_VK1

```

METPAQLLEFLLLWLPLDPTTGEIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGS SPLTFGGGTKVEIK

```

Фиг. 3C

VH1 17C3 κ TIM-3

сегмент V: 1-46

сегмент D: 3-10

сегмент J: JH6b

```

1      Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S
      CAG GTG CAG TTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA

52      V K V S C K A S G Y T F T S Y Y M
      GTG AAG GTC TCC TGC AAG GCA TCT GGA TAC ACT TTC ACC AGC TAC TAT ATG

103     H W V R Q A P G Q G L E W M G I I
      CAC TGG GTG CGA CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTT GAG TGG ATG GGA ATA ATC

154     N P R G D S I I Y A Q K F Q G R V
      AAC CCT AGG GGT GAT AGC ATA ATC TAC GCA CAG AAG TTC CAG GGC AGA GTC

205     T M T R D T S T S T V Y M E L S S
      ACC ATG ACC AGG GAC ACG TCC ACG AGC ACA GTC TAC ATG GAG CTG AGC AGC

256     L R S E D T A V Y Y C A R D F Y G
      CTG AGA TCT GAG GAC ACG GCC GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT TTC TAT GGT

307     S G N Y Y Y G M D V W G Q G T T V
      TCG GGA AAC TAC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC

358     T V S S
      ACC GTC TCC TCA

```

Фиг. 4А

VK1 17C3 κ TIM-3

сегмент V: A27

сегмент J: JK5

```

1      E I V L T Q S P G T L S L S P G E
      GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

52      R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

103     A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
      GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

154     A S S R A T G I P D R F S G S G S
      GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

205     G T D F T L T I S R L E P E D F A
      CCC ACA CAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC ACA CTG CAC CCT CAA CAT TTT CCA

256     V Y Y C Q Q Y G S S P I T F G Q G
      GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG ATC ACC TTC GGC CAA GGG

307     T R L E I K
      ACA CGA CTG GAG ATT AAA

```

Фиг. 4В

17C3_NT_VH1

ATGGACTGGACCTGGAGGCTCTTCTGCTTGCTGGCTGTAGCTCCAGGTGCTCACTCCAGGTGCAGTTGGTGCAG
TCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCATCTGGATACTTTACCAGC
TACTATATGCACCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAACCCCTAGGGGTGAT
AGCATAATCTACGCACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCAACATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATG
GAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTATTACTGTGGGAGAGATTTCTATGTTCCGGGAAACTAC
TACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

17C3_AA_VH1

MDWTWRVFCLLAVAPGAHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFSTSYMHWRQAPGQGLEWMGIINPRGD
SIIYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARDIFYGSGNYYYGMDVWGQGTITVTVSS

17C3_NT_VK1

ATGGAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCCTCCTGCGAGGGCCAGTCAGAGTGTAGC
AGCAGTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTG
GAGATTAAA

17C3_AA_VK1

METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPITFGQTRLEIK

Фиг. 4С

VH1 9F6 к TIM-3

сегмент V: 3-11

сегмент D: 6-19

сегмент J: JH6b

1	Q	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	K	P	G	G	S
	CAG	GTG	CAG	CTG	GTG	GAG	TCT	GGG	GGA	GGC	TTG	GTC	AAG	CCT	GGA	GGG	TCC
52	L	R	L	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	CDR1			
	CTG	AGA	CTC	TCC	TGT	GCA	GCC	TCT	GGA	TTC	ACC	TTC	AGT	GAC	TAC	TAC	ATG
103	S	W	I	R	Q	A	P	G	K	G	L	E	W	V	S	CDR2	
	AGC	TGG	ATC	CGC	CAG	GCT	CCA	GGG	AAG	GGG	CTG	GAG	TGG	GTT	TCA	TTC	ATT
154	S	G	G	G	S	T	I	Y	Y	A	D	S	V	K	G	R	F
	AGT	GGT	GGT	GGT	AGT	ACC	ATA	TAC	TAC	GCA	GAC	TCT	GTG	AAG	GGC	CGA	TTC
205	T	I	S	R	D	N	A	K	N	S	L	F	L	Q	M	N	S
	ACC	ATC	TCC	AGG	GAC	AAC	GCC	AAG	AAC	TCG	CTG	TTT	CTG	CAA	ATG	AAC	AGC
256	L	R	V	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	CDR3			
	CTG	AGA	GTC	GAG	GAC	ACG	GCT	GTG	TAT	TAC	TGT	GCG	AGA	GAT	GGC	TAT	AGC
307	S	G	W	Y	Y	Y	G	M	D	V	W	G	Q	G	T	A	V
	AGT	GGC	TGG	TAC	TAC	TAC	GGT	ATG	GAC	GTC	TGG	GGC	CAA	GGG	ACC	GCG	GTC
358	T	V	S	S													
	ACC	GTC	TCC	TCA													

Фиг. 5A

VK1 9F6 к TIM-3

сегмент V: L18

сегмент J: JK1

```

1      A I Q L T Q S P S S L S A S V G D
      GCC ATC CAG TTG ACC CAG TCT CCA TCC TCC CTG TCT GCA TCT GTA GGA GAC

      CDR1
52     R V T I T C R A S Q G I S S A L A
      AGA GTC ACC ATC ACT TGC CGG GCA AGT CAG GGC ATT AGC AGT GCT TTA GCC

      CDR2
103    W Y Q Q K P G K A P K L L I Y D A
      TGG TAT CAG CAG AAA CCA GGG AAA GCT CCT AAG CTC CTG ATC TAT GAT GCC

      S S L E S G V P S R F S G S G S G
154    TCC AGT TTG GAA AGT GGG GTC CCA TCA AGG TTC AGC GGC AGT GGA TCT GGG

      T D F T L T I S S L Q P E D F A T
205    ACA GAT TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGC CTG CAG CCT GAA GAT TTT GCA ACT

      CDR3
256    Y Y C Q Q F N S Y P R T F G Q G T
      TAT TAC TGT CAA CAG TTT AAT AGT TAC CCT CGG ACG TTC GGC CAA GGG ACC

      K V E I K
307    AAG GTG GAA ATC AAA

```

Фиг. 5B

VK2 9F6 к TIM-3

сегмент V: A27

сегмент J: JK4

```

1      E I V L T Q S P G T L S L S P G E
      GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      CDR1
52     R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

      A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
103    GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      CDR2
154    A S S R A T G I P D R F S G S G S
      GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

      G T D F T L T I S R L E P E D F A
205    GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

      CDR3
256    V Y Y C Q Q Y G S S L T F G G G T
      GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CTC ACT TTC GGC GGA GGG ACC

      K V E I K
307    AAG GTG GAG ATC AAA

```

Фиг. 5C

VK3 9F6 к TIM-3

сегмент V: A27

сегмент J: JK4

```

      E I V L T Q S P G T L S L S P G E
1   GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      CDR1
      R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
52  AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

      A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
103 GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      CDR2
      A S S R A T G I P D R F S G S G S
154 GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

      G T D F T L T I S R L E P E D F A
205 GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

      CDR3
      V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G
256 GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG CTC ACT TTC GGC GGA GGG

      T K V E I K
307 ACC AAG GTG GAG ATC AAA

```

Фиг. 5D

9F6_NT_VH1

TGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCTTGTGCTATTATAAAAGGTGCCAGTGTCCAGGTGCAGCTGGTGGAGT
 CTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACACCTTCAGTGACT
 ACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATTATTAGTGGTGGTGGTAGTA
 CCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAAGCTCGCTGTTTCTGC
 AAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGCTATAGCAGTGGCTGGTACT
 ACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCCGGTCCACCGTCTCCTCA

9F6_AA_VH1

MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSFI SGGGS
 TIYYADSVKGRFTISRDNKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYS SGWYYYGMDVWGQGTAVTVSS

9F6_NT_VK1

ATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTTCTGCTGCTCTGGCTCCCAGGTGCCAGATGTGCCATCCAG
 TTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGC
 ATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGT
 TTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTGAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTG
 CAGCCTGAAGATTTTGCACCTTATTACTGTCAACAGTTAATAGTTACCTCGGACGTTCCGGCAAGGGACCAAG
 GTGGAAATCAAA

9F6_AA_VK1

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDVITTCRASQGISSALAWYQQKPKGKAPKLLIYDASS
 LESGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQFNSYPRTFGGQTKVEIK

9F6_NT_VK2

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTTGTGTTGACG
 CAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGC
 AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
 GCCACTGGCATCCCAGACAGTTTCACTGGCAGTGGGCTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
 CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTCACTCACTTTCCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAG
 ATCAAA

9F6_AA_VK2

METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
 ATGIPDRFSGSGSDFTLTI SRLEPEDFAVYYCQQYGS SLLTFGGGTKVEIK

9F6_NT_VK3

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAATTTGTGTTGACG
 CAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGC
 AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
 GCCACTGGCATCCCAGACAGTTTCACTGGCAGTGGGCTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
 CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTATGGTAGCTCACCGCTCACTTTCCG
 CGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

9F6_AA_VK3

METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
 ATGIPDRFSGSGSDFTLTI SRLEPEDFAVYYCQQYGS SPLTFGGGTKVEIK

Фиг. 5E

VH1 3G4 к TIM-3

сегмент V: 3-11

сегмент D: 6-13

сегмент J: JH6b

```

1      Q V Q L V E S G G G L V K P G G S
      CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTC AAG CCT GGA GGG TCC

      L R L S C A A S G F T F S D Y Y M
52     CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTC AGT GAC TAC TAC ATG
      CDR1
      S W I R Q A P G K G L E W V S F I
103    AGC TGG ATC CGC CAG GCT CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG GTT TCA TTC ATT
      CDR2
      S T S G S I I Y Y A D S V K G R F
154    AGT ACT AGT GGT AGT ATC ATA TAC TAC GCA GAC TCT GTG AAG GGC CGA TTC

      T I S R D N A K N S L Y L Q M N S
205    ACC ATC TCC AGG GAC AAC GCC AAG AAC TCA CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

      L R A E D T A V Y Y C A R E G Y S
256    CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAA GGG TAT AGC
      CDR3
      S S W S Y Y Y G M D V W G Q G T T
307    AGC AGC TGG TCC TAC TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG

      V T V S S
358    GTC ACC GTC TCC TCA

```

Фиг. 6А

VK1 3G4 κ TIM-3

сегмент V: A27

сегмент J: JK5

```

1      E I V L T Q S P G T L S L S P G E
      GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      CDR1
52     R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
      AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

      A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
103    GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      CDR2
154    A S S R A T G I P D R F S G S G S
      GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

      G T D F T L T I S R L E P E D F A
205    GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

      CDR3
256    V Y Y C Q Q Y G S S P I T F G Q G
      GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG ATC ACC TTC GGC CAA GGG

      T R L E I K
307    ACA CGA CTG GAG ATT AAA

```

Фиг. 6B

3G4_NT_VH1

```

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTTGTTGCTATTATAAAAAGGTGTCCAGTGTCCAGGTGCAGCTGGTGGAG
TCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGAC
TACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTACTAGTGGTAGT
ATCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATCACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACCTACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAAGGGTATAGCAGCAGCTGGTCC
TACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

```

3G4_AA_VH1

```

MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPKGLEWVSIISTSGS
IIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGYSSWSYFYGMVWVQGTITVTVSS

```

3G4_NT_VK1

```

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAGATACCACCGGAGAAATTTGTGTGACG
CAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTG
GAGATTTAAA

```

3G4_AA_VK1

```

METPAQLLFLLLLWLPDPTTGEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPITFGQGRLEIK

```

Фиг. 6C

VH1 17C8 κ TIM-3

сегмент V: 3-11

сегмент D: 6-19

сегмент J: JH6b

```

1      Q V Q L V E S G G G L V K P G G S
      CAG GTG CAG CTG GTG GAG TCT GGG GGA GGC TTG GTC AAG CCT GGA GGG TCC

      L R L S C A A S G F T F S D Y Y M
52     CTG AGA CTC TCC TGT GCA GCC TCT GGA TTC ACC TTC AGT GAC TAC TAC ATG
      CDR1
      S W I R Q A P G K G L E W V S F I
103    AGC TGG ATC CGC CAG GCT CCA GGG AAG GGG CTG GAG TGG GTT TCA TTC ATT

      S S S G S I I Y Y A D S V K G R F
154    AGT AGT AGT GGT AGT ATC ATA TAC TAC GCA GAC TCT GTG AAG GGC CGA TTC
      CDR2
      T I S R D N A K N S L Y L Q M N S
205    ACC ATC TCC AGG GAC AAC GCC AAG AAC TCA CTG TAT CTG CAA ATG AAC AGC

      L R A E D T A V Y Y C A R D G Y S
256    CTG AGA GCC GAG GAC ACG GCT GTG TAT TAC TGT GCG AGA GAT GGG TAT AGC
      CDR3
      S G W E Y Y G M D V W G Q G T T V
307    AGT GGC TGG GAG TAC TAC GGT ATG GAC GTC TGG GGC CAA GGG ACC ACG GTC

      T V S S
358    ACC GTC TCC TCA

```

Фиг. 7А

VK1 17C8 κ TIM-3

сегмент V: A27

сегмент J: JK4

```

      E I V L T Q S P G T L S L S P G E
1    GAA ATT GTG TTG ACG CAG TCT CCA GGC ACC CTG TCT TTG TCT CCA GGG GAA

      CDR1
      R A T L S C R A S Q S V S S S Y L
52   AGA GCC ACC CTC TCC TGC AGG GCC AGT CAG AGT GTT AGC AGC AGC TAC TTA

      A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y G
103  GCC TGG TAC CAG CAG AAA CCT GGC CAG GCT CCC AGG CTC CTC ATC TAT GGT

      CDR2
      A S S R A T G I P D R F S G S G S
154  GCA TCC AGC AGG GCC ACT GGC ATC CCA GAC AGG TTC AGT GGC AGT GGG TCT

      G T D F T L T I S R L E P E D F A
205  GGG ACA GAC TTC ACT CTC ACC ATC AGC AGA CTG GAG CCT GAA GAT TTT GCA

      CDR3
      V Y Y C Q Q Y G S S P L T F G G G
256  GTG TAT TAC TGT CAG CAG TAT GGT AGC TCA CCG CTC ACT TTC GGC GGA GGG

      T K V E I K
307  ACC AAG GTG GAG ATC AAA

```

Фиг. 7B

17C8_NT_VH1

```

ATGGAGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTTCCTTGTGTCTATATATAAAAGGTGTCCAGTGTCCAGTGCAGCTGGTGGAG
TCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTGAC
TACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATTTCATTAGTAGTAGTGGTAGT
ATCATATACACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTG
CAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGTATAGCAGTGGCTGGGAG
TACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

```

17C8_AA_VH1

```

MEFGLSWVFLVAIIKGVQCQVQLVESGGGLVLPKGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKLEWVSFISSSGS
LIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYSSGWEYYGMDVWVGQGTTVTVSS

```

17C8_NT_VK1

```

ATGGAAACCCAGCGCAGCTTCTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCCAGATACCACCGGAGAAAATTGTGTTGACG
CAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGC
AGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGG
GCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCTCAGCAGTATGGTAGCTCACCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTG
GAGATCAAA

```

17C8_AA_VK1

```

METPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPGTLTSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSR
ATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPLTFGGGTKEIK

```

Фиг. 7C

Обозначение последовательностей легких цепей

	SEQ ID NO:			
	VL	CDR1	CDR2	CDR3
13A3	60	64	66	68
8B9	61	64	66	69
8C4	61	64	66	69
17C3	60	64	66	68
9F6 (VK1)	62	65	67	70
9F6 (VK2)	63	64	66	71
9F6 (VK3)	61	64	66	69
3G4	60	64	66	68
17C8.	61	64	66	69

Фиг. 9B

Выравнивание последовательностей тяжелой цепи 13A3.IgG1.3f и вариантов

```

TIM3.5      QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.11     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.12     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.13     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.10     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.18     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.14     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.16     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.15     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
TIM3.17     QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSRSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGFTY
*****

TIM3.5      YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.11     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.12     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.13     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.10     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.18     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.14     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.16     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.15     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
TIM3.17     YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCATGGPYGDYAHWFDPWGQGLTIVT
* *****; *****

TIM3.5      VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.11     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.12     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.13     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.10     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.18     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.14     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.16     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.15     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
TIM3.17     VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVL
*****

TIM3.5      QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.11     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.12     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.13     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.10     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.18     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.14     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.16     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.15     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.17     QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
*****

TIM3.5      EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.11     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.12     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.13     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.10     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.18     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.14     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.16     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.15     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.17     EGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
*****

```

Фиг. 10

```

TIM3.5 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.11 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.12 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.13 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.10 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.18 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.14 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.16 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.15 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.17 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
*****

TIM3.5 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.11 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.12 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.13 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.10 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.18 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.14 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.16 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.15 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.17 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
*****

TIM3.5 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.11 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.12 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.13 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.10 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.18 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.14 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.16 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.15 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.17 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
*****

```

Фиг. 10 (Продолжение)

Выравнивание последовательностей тяжелой цепи 9F6.IgG1.3f и варианта (A108T)

```

9F6 QVQLVESGGGLVPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIYY
TIM3.7 QVQLVESGGGLVPKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSFISGGGSTIYY
*****

9F6 ADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYGMDVWGQGTAVT
TIM3.7 ADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRVEDTAVYYCARDGYSSGWYYGMDVWGQGTAVT
*****

9F6 VSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
TIM3.7 VSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
*****

9F6 QSSGLYSLSSVVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
TIM3.7 QSSGLYSLSSVVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA
*****

9F6 EGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
TIM3.7 EGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
*****

9F6 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
TIM3.7 QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPS
*****

9F6 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
TIM3.7 REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
*****

9F6 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
TIM3.7 SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
*****

```

Фиг. 11

8B9 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKGLEWIGYIHYSGSTNYN
 TIM3.8 QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSI SRHYWNWIRQPPGKGLEWIGYIHYSGSTNYN

8B9 SSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGT'TVTVSSAST
 TIM3.8 PSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDTGYGMDIWGQGT'TVTVSSAST

8B9 KGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
 TIM3.8 KGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY

8B9 SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV
 TIM3.8 SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSV

8B9 FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
 TIM3.8 FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY

8B9 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 TIM3.8 RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

8B9 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 TIM3.8 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG

8B9 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
 TIM3.8 NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

Фиг. 12

H.n.*	Название рек. антигена	Тяжелая цепь						Легкая цепь						
		VH			Изотип HC			VL			Изотип LC			
		HC	VH	CDR1	CDR2	CDR3		LC	VL	VL	CDR1	CDR2	CDR3	
13A3	-	301, 302	34	41	46	53	hlgG4	29	VK1	60	64	66	68	hKappa
-	TIM3.5-IgG1.1f	1, 8*					IgG1.1f							
	13A3-IgG1.1f													
	13A3-IgG1.3f	15,22					IgG1.3f							
	13A3-IgG4P	303, 304					IgG4							
	TIM3.10-IgG1.1f (13A3 VH-N60Q)	72, 82	112		122		IgG1.1f							
	TIM3.10-IgG1.3f	92, 102					IgG1.3f							
	TIM3.10-IgG4P	305, 306					IgG4P							
	TIM3.11-IgG1.1f (13A3 VH-N60S)	73, 83	113		123		IgG1.1f							
	TIM3.11-IgG1.3f	93, 103					IgG1.3f							
	TIM3.11-IgG4P	307, 308					IgG4P							
	TIM3.12-IgG1.1f (13A3 VH-N60A)	74, 84	114		124		IgG1.1f							
	TIM3.12-IgG1.3f	94, 104					IgG1.3f							
	TIM3.12-IgG4P	309, 310					IgG4P							
	TIM3.13-IgG1.1f (13A3 VH-D101E)	75, 85	115		46	126	IgG1.1f							
	TIM3.13-IgG1.3f	95, 105					IgG1.3f							
	TIM3.13-IgG4P	311, 312					IgG4P							
	TIM3.14-IgG1.1 (13A3 VH-P102V)	76, 86	116			127	IgG1.1f							
	TIM3.14-IgG1.3f	96, 106					IgG1.3f							
	TIM3.14-IgG4P	313, 314					IgG4P							
	TIM3.15-IgG1.1f (13A3 VH-P102Y)	77, 87	117			128	IgG1.1f							
	TIM3.15-IgG1.3f	97, 107					IgG1.3f							
	TIM3.15-IgG4P	315, 316					IgG4P							
	TIM3.16-IgG1.1f (13A3 VH-P102L)	78, 88	118			129	IgG1.1f							
	TIM3.16-IgG1.3f	98, 108					IgG1.3f							

Фиг. 13

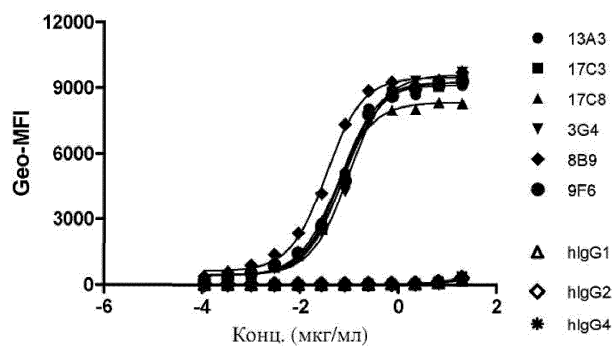
H.n.*	Название рек. антигена	Тяжелая цепь					Легкая цепь								
		HC	VH	CDR1	CDR2	CDR3	Изотип HC	LC	VL	VL	VL	CDR1	CDR2	CDR3	Изотип LC
	TIM3.16-IgG4P	317, 318					IgG4P								
	TIM3.17-IgG1.1f (13A3 VH-N60Q,P102Y)	79, 89	119		122	128	IgG1.1f								
	TIM3.17-IgG1.3f	99, 109					IgG1.3f								
	TIM3.17-IgG4P	319, 320					IgG4P								
	TIM3.18-IgG1.1f (13A3-VH-N60Q, D101E)	349, 350	364			126	IgG1.1f								
	TIM3.18-IgG1.3f (13A3-VH-N60Q, D101E)	351, 352					IgG1.3f								
	TIM3.18-IgG4P (13A3-VH-N60Q, D101E)	353, 354					IgG4P								
889	-	321, 322	35	42	47	54	IgG1za	30	VK1	61				69	
	889-IgG1.1f	2,9					IgG1.1f								
	889-IgG1.3f	16,23					IgG1.3f								
	889-IgG4P	323, 324					IgG4P								
	TIM3.8-IgG1.1f (889 VH S61P)	80,90	120		125		IgG1.1f								
	TIM3.8-IgG1.3f	100,110					IgG1.3f								
	TIM3.8-IgG4P	325, 326					IgG4P								
8C4	-	327, 328	36	43	48	55	IgG1za								
	TIM3.6-IgG1.1f (8C4)	3,10					IgG1.1f								
	TIM3.6-IgG1.3f	17,24					IgG1.3f								
	TIM3.6-IgG4P	329, 330					IgG4P								
17C3	-	331, 332	37	44	49	56	IgG1za	29	VK1	60				68	

H.n.*	Название рек. антигена	Тяжелая цепь					Легкая цепь								
		HC	VH	CDR1	CDR2	CDR3	Изотип HC	LC	VL	VL	VL	CDR1	CDR2	CDR3	Изотип LC
	TIM3.2-IgG1.1f (17C3-IgG1.1f)	4,11					IgG1.1f								
	TIM3.2-IgG1.3f	18,25					IgG1.3f								
	TIM3.2-IgG4P	333, 334					IgG4P								
9F6	-	335, 336	38	45	50	57	IgG1za	32	VK1	62	65	67	70		
								33	VK2	63	64	66	71		
								31	VK3	61			69		
	9F6-IgG1.1f	5,12					IgG1.1f	33	VK2	63			71		
	9F6-IgG1.3f	19,26					IgG1.3f								
	9F6-IgG4P	337, 338					IgG4P								
	TIM3.7-IgG1.1f (9F6 VK2 VH-A108T)	81,91	121				IgG1.1f								
	TIM3.7-IgG1.3f	101,111					IgG1.3f								
	TIM3.7-IgG4P	339, 340					IgG4P								
3G4	-	341, 342	39		51	58	IgG1za	29	VK1	60				68	
	TIM3.4-IgG1.1f	6,13					IgG1.1f								
	3G4-IgG1.1f														
	TIM3.4-IgG1.3f	20,27					IgG1.3f								
	TIM3.4-IgG4P	343, 344					IgG4P								

H.n.*	Название рек. антигена	Тяжелая цепь					Легкая цепь								
		HC	VH	CDR1	CDR2	CDR3	Изотип HC	LC	VL	VL	VL	CDR1	CDR2	CDR3	Изотип LC
17C8	-	345, 346	40		52	59	IgG4	30	VK1	61				69	
	TIM3.9-IgG1.1f (17C8)	7,14					IgG1.1f								
	TIM3.9-IgG1.3f	21,28					IgG1.3f								
	TIM3.9-IgG4P	347, 348					IgG4P								

Фиг. 13 (Продолжение)

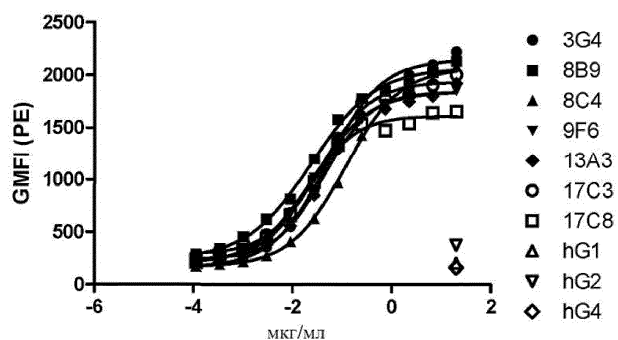
Связывание антител к TIM-3 с трансфекантами CHO-huTIM3



	EC50
13A3	0,06358
17C3	0,07208
17C8	0,05160
3G4	0,09602
8B9	0,03371
9F6	0,07401
hIgG1	39740
hIgG2	42256
hIgG4	29319

Фиг. 14А

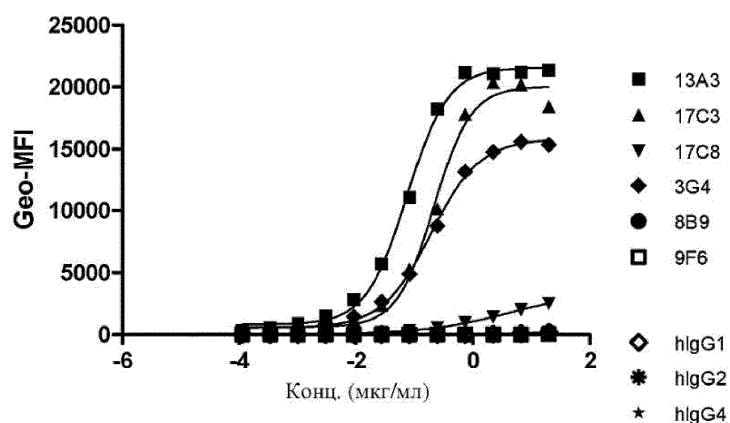
Связывание анти-TIM-3 с активированными Т-клетками человека



	EC50
3G4	0,05043
8B9	0,02392
8C4	0,1149
9F6	0,02660
13A3	0,04274
17C3	0,03621
17C8	0,02083

Фиг. 14В

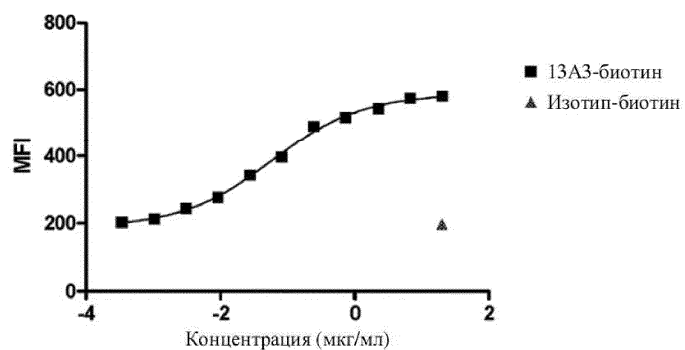
Транфектант CHO-супоТ1М3



	EC50
13A3	0,07486
17C3	0,2159
17C8	4,709
3G4	0,1952
8B9	~ 2,532
9F6	~ 7,465
hIgG1	75731
hIgG2	44504
hIgG4	54134

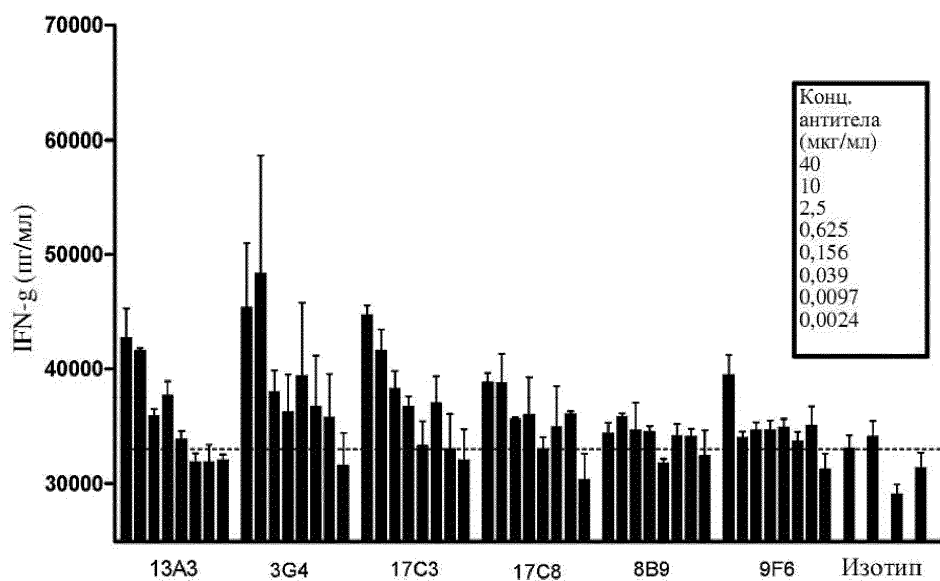
Фиг. 15А

Активированные Т-клетки яванского макака

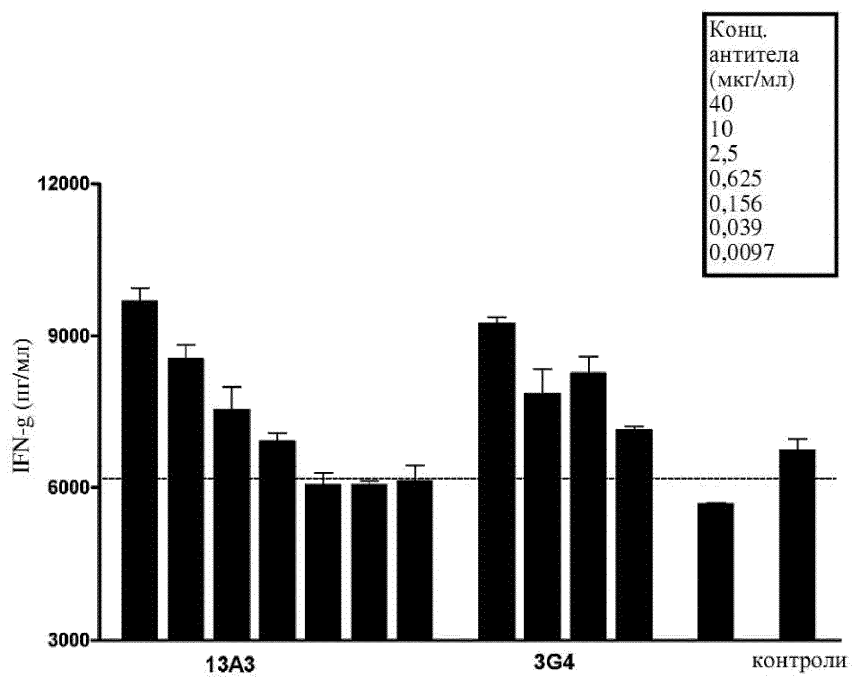


	13A3-биотин
EC50	0,06018

Фиг. 15В

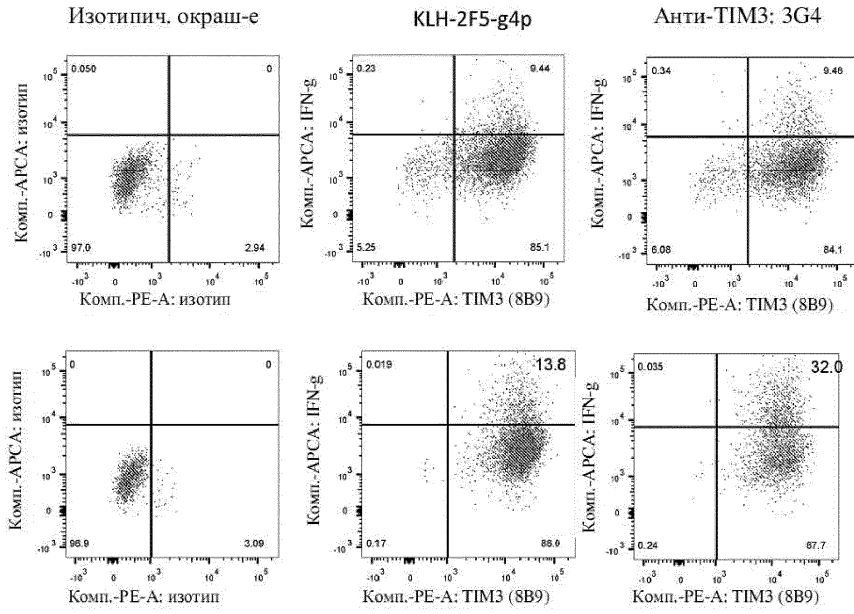


Фиг. 16

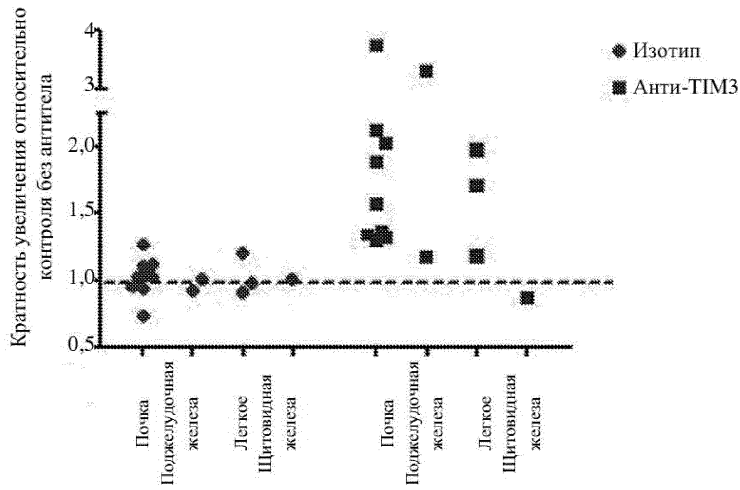


Фиг. 17А

Обработка антителом

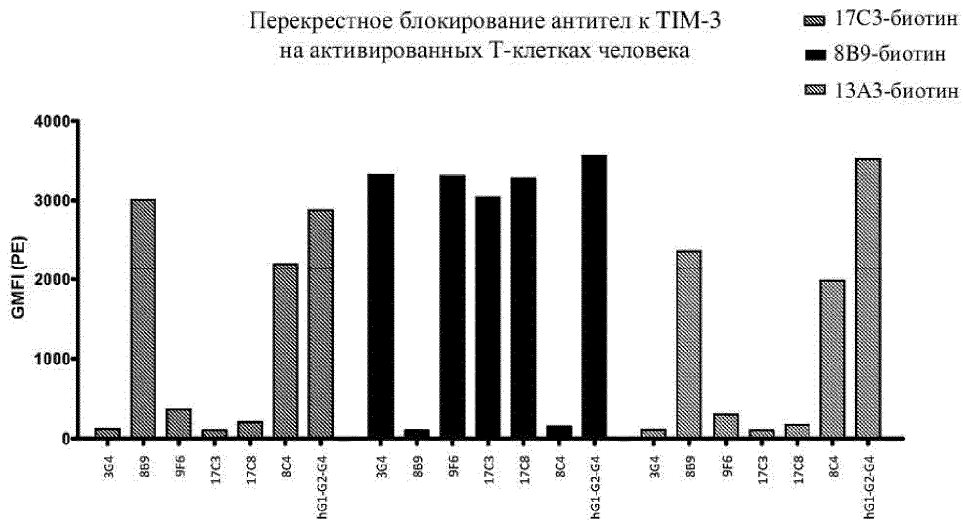


Фиг. 17В



Фиг. 18

Перекрестное блокирование антител к TIM-3 на активированных Т-клетках человека

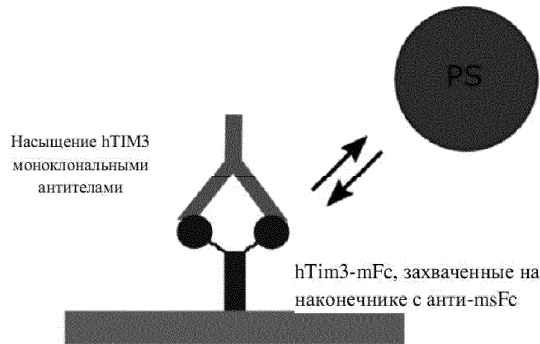


Фиг. 19

Остатки эпитопа на белке TIM3

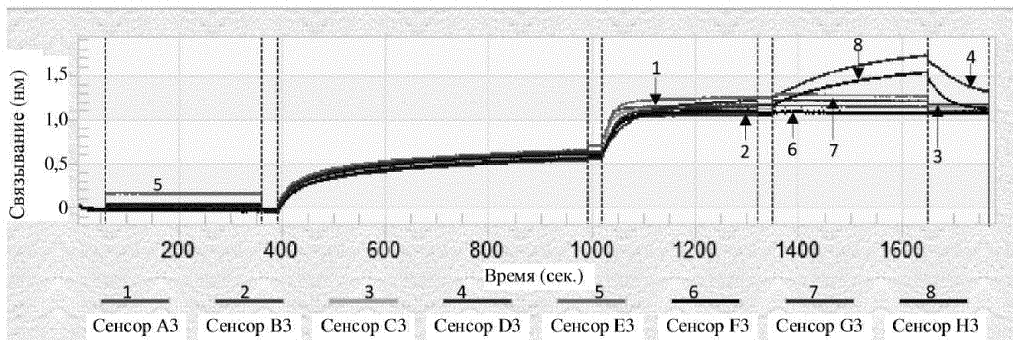
	10	20	30	40	50	60
TIM3	<u>MFSHLPFDCV</u>	<u>LLLLLLLTR</u>	SSEVEYRAEV	GQNAYLPCFY	TPAAPGNLVP	VCWGKGACPV
13A3						CP
3G4						CPV
17C3						CPV
8B9					L	
	70	80	90	100	110	120
TIM3	FECGNVLR	DERDVNYWTS	RYWLNDFRK	GDVSLTIENV	TLADSGIYCC	RIQIPGIMND
13A3	FEC				D	R Q D
3G4	FEC				D	G M
17C3	FECG				D	G
8B9		W S R	W L G D R		D	
	130	140	150	160	170	180
TIM3	EKFNLKLVIK	PAKVTPAPTR	QRDFTAAPFR	MLTTRGHGPA	ETQTLGSLPD	INLTQISTLA
13A3						
3G4						
17C3						
8B9						
	190	200	210	220	230	240
TIM3	NELRDSRLAN	DLRDSGATIR	IGIYIGAGIC	AGLALALIFG	ALIFKWYSHS	KEKIQNLSLI
	250	260	270	280	290	300
TIM3	SLANLPPSGL	ANAVAEGIRS	EENIYTIEN	VYEVEEPNEY	YCYVSSRQQP	SQPLGCRFAMP

Фиг. 20



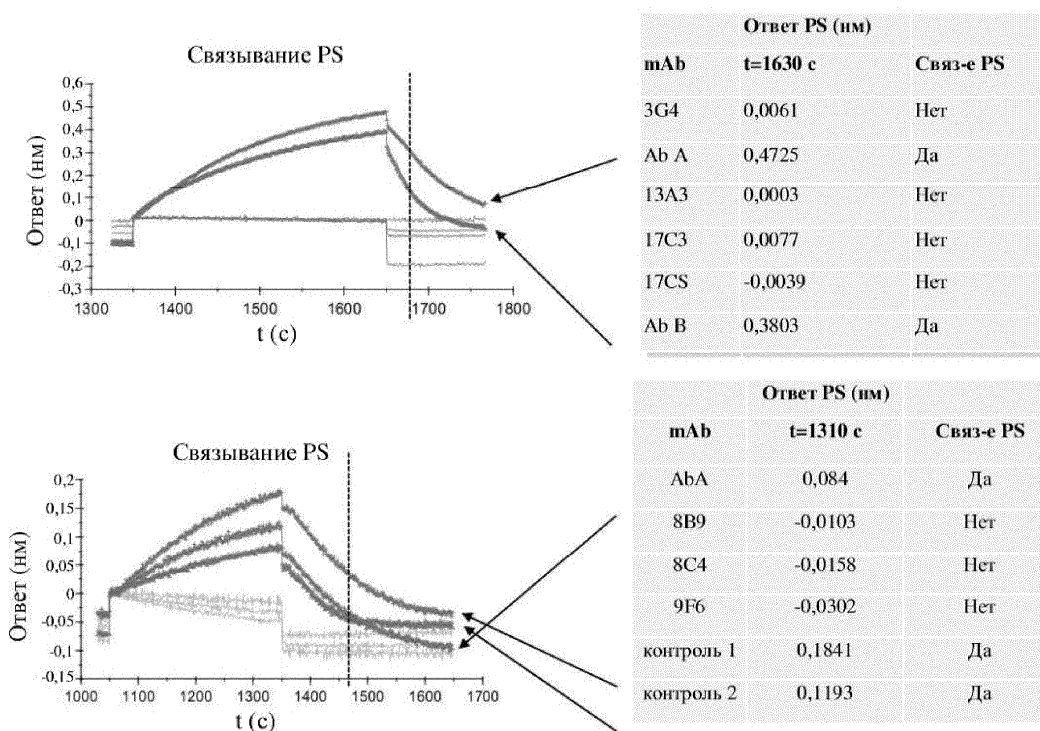
Фиг. 21А

Наконечники	Исследование перекрестной реактивности	загрузка	насыщение	связывание
a-msFc	вытесненный PS	~50 нМ сайтов связывания hTim3-mFc	антитела	вытесненный PS



Осет НТХ, 25С, PBS рН 7,4 с БСА в концентрации 1 мг/мл, захваченные hTIM3-ECD-mFc, панель связывания антител кTIM3, связывание вытесненного PS исследовали при 1/2 разведении.

Фиг. 21В



Фиг. 21В (Продолжение)

Сводная таблица функциональной активности антител к TIM3

Клон	Анализ связывания (EC50 нМ)				Анализ Т-клеток	Анализ TIL	Блокирование PS-TIM3
	Т-клетки человека (нМ)	Т-клетки яванского макака (нМ)	СНО-huTIM3 (нМ)	СНО-супоTIM3 (нМ)			
13A3 (IgG4)	0,27	0,4	0,4	0,47	N/A	Зависит от дозы	Да
3G4(IgG2)	0,3	Не конт.	0,67	1,3	Зависит от дозы	Зависит от дозы	Да
17C3 (IgG1)	0,24	Не конт.	0,47	1,4	Зависит от дозы	Зависит от дозы	Да
17C8 (IgG1)	0,13	Не конт.	0,33	Не конт.	Зависит от дозы	Зависит от дозы	Да
9F6(IgG1)	0,13	Не конт.	0,47	Не конт.	Слабо	Нет активности	Да
8B9 (IgG4)	0,13	Не конт.	0,2	Не конт.	Слабо	Нет активности	Да
8C4(IgG1)	0,73	Не конт.	N/A	Не конт.	Слабо	Нет активности	Да

Фиг. 22

Описание последовательностей, представленных SEQ ID NO

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
1	13A3	IgG1.1f HC	Аминокислота
2	8B9	IgG1.1f HC	Аминокислота
3	8C4	IgG1.1f HC	Аминокислота
4	17C3	IgG1.1f HC	Аминокислота
5	9F6	IgG1.1f HC	Аминокислота
6	3G4	IgG1.1f HC	Аминокислота
7	17C8	IgG1.1f HC	Аминокислота
8	13A3	IgG1.1f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
9	8B9	IgG1.1f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
10	8C4	IgG1.1f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
11	17C3	IgG1.1f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
12	9F6	IgG1.1f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
13	3G4	IgG1.1f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
14	17C8	IgG1.1f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
15	13A3	IgG1.3f HC	Аминокислота
16	8B9	IgG1.3f HC	Аминокислота
17	8C4	IgG1.3f HC	Аминокислота
18	17C3	IgG1.3f HC	Аминокислота
19	9F6	IgG1.3f HC	Аминокислота
20	3G4	IgG1.3f HC	Аминокислота
21	17C8	IgG1.3f HC	Аминокислота
22	13A3	IgG1.3f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
23	8B9	IgG1.3f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
24	8C4	IgG1.3f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
25	17C3	IgG1.3f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
26	9F6	IgG1.3f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
27	3G4	IgG1.3f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
28	17C8	IgG1.3f HC (без C-концевого К)	Аминокислота
29	13A3, 17C3, 3G4	LC	Аминокислота
30	8B9, 8C4, 17C8	LC	Аминокислота
31	9F6 (VK3)	LC	Аминокислота
32	9F6 (VK1)	LC	Аминокислота
33	9F6 (VK2)	LC	Аминокислота
34	13A3	VH	Аминокислота
35	8B9	VH	Аминокислота

Фиг. 23

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
36	8C4	VH	Аминокислота
37	17C3	VH	Аминокислота
38	9F6	VH	Аминокислота
39	3G4	VH	Аминокислота
40	17C8	VH	Аминокислота
41	13A3, включая в себя следующие варианты 13A3: N60Q; N60S; N60A; D101E; P102V; P102Y; P102L; N60Q и P102Y; N60Q и D101E	CDR1 (VH)	Аминокислота
42	8B9, включая в себя вариант 8B9 (S61P)	CDR1 (VH)	Аминокислота
43	8C4	CDR1(VH)	Аминокислота
44	17C3	CDR1 (VH)	Аминокислота
45	9F6, включая в себя вариант 9F6 (A108T); 3G4; 17C8	CDR1 (VH)	Аминокислота
46	13A3, включая в себя следующие варианты 13A3: D101E, P102V, P102Y и P102L	CDR2 (VH)	Аминокислота
47	8B9	CDR2(VH)	Аминокислота
48	8C4	CDR2(VH)	Аминокислота
49	17C3	CDR2 (VH)	Аминокислота
50	9F6, включая в себя вариант 9F6 (A108T)	CDR2 (VH)	Аминокислота
51	3G4	CDR2(VH)	Аминокислота
52	17C8	CDR2 (VH)	Аминокислота
53	13A3, включая в себя следующие варианты 13A3: N60Q, N60S, N60 A	CDR3 (VH)	Аминокислота
54	8B9, включая в себя следующие варианты 8B9 (S61P)	CDR3 (VH)	Аминокислота
55	8C4	CDR3(VH)	Аминокислота
56	17C3	CDR3 (VH)	Аминокислота
57	9F6, включая в себя следующие варианты 9F6 (A108T)	CDR3 (VH)	Аминокислота
58	3G4	CDR3 (VH)	Аминокислота

Фиг. 23 (Продолжение)

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
59	17C8	CDR3 (VH)	Аминокислота
60	13A3, 17C3, 3G4	VL	Аминокислота
61	8B9, 8C4, 17C8, 9F6 (VK3)	VL	Аминокислота
62	9F6 (VK1)	VL	Аминокислота
63	9F6 (VK2)	VL	Аминокислота
64	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR1 (VL)	Аминокислота
65	9F6 (VK1)	CDR1 (VL)	Аминокислота
66	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR2 (VL)	Аминокислота
67	9F6 (VK1)	CDR2 (VL)	Аминокислота
68	13A3, 17C3, 3G4	CDR3 (VL)	Аминокислота
69	8B9, 8C4, 9F6 (VK3), 17C8	CDR3 (VL)	Аминокислота
70	9F6 (VK1)	CDR3 (VL)	Аминокислота
71	9F6 (VK2)	CDR3 (VL)	Аминокислота
72	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC	Аминокислота
73	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC	Аминокислота
74	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC	Аминокислота
75	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC	Аминокислота
76	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC	Аминокислота
77	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC	Аминокислота
78	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC	Аминокислота
79	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC	Аминокислота
349	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC	Аминокислота
80	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC	Аминокислота
81	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC	Аминокислота
82	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота
83	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота
84	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота
85	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота
86	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота
87	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота
88	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота
89	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота
350	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC (без С-концевого К)	Аминокислота

Фиг. 23 (Продолжение)

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
90	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
91	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
92	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC	Аминокислота
93	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC	Аминокислота
94	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC	Аминокислота
95	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC	Аминокислота
96	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC	Аминокислота
97	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC	Аминокислота
98	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC	Аминокислота
99	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC	Аминокислота
351	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC	Аминокислота
100	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC	Аминокислота
101	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC	Аминокислота
102	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
103	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
104	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
105	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
106	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
107	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
108	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
109	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
352	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
110	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
111	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Аминокислота
112	13A3 (N60Q)	VH	Аминокислота
113	13A3 (N60S)	VH	Аминокислота
114	13A3 (N60A)	VH	Аминокислота
115	13A3 (D101E)	VH	Аминокислота
116	13A3 (P102V)	VH	Аминокислота
117	13A3 (P102Y)	VH	Аминокислота
118	13A3 (P102L)	VH	Аминокислота
119	13A3 (N60Q, P102Y)	VH	Аминокислота
364	13A3 (N60Q, D101E)	VH	Аминокислота
120	8B9 (S61P)	VH	Аминокислота
121	9F6 (A108T)	VH	Аминокислота

Фиг. 23 (Продолжение)

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
122	13A3 (N60Q); 13A3 (N60Q, P102Y); 13A3 (N60Q, D101E)	CDR2 (VH)	Аминокислота
123	13A3 (N60S)	CDR2 (VH)	Аминокислота
124	13A3 (N60A)	CDR2 (VH)	Аминокислота
125	8B9 (S61P)	CDR2 (VH)	Аминокислота
126	13A3 (D101E); 13A3 (N60Q, D101E)	CDR3 (VH)	Аминокислота
127	13A3 (P102V)	CDR3 (VH)	Аминокислота
128	13A3 (P102Y); 13A3 (N60Q, P102Y)	CDR3 (VH)	Аминокислота
129	13A3 (P102L)	CDR3 (VH)	Аминокислота
130	Все антитела	Константный домен HC (IgG1.1f)	Аминокислота
131	Все антитела	Константный домен HC (IgG1.1f) (без C-концевого K)	Аминокислота
132	Все антитела	Константный домен HC (IgG1.3f)	Аминокислота
133	Все антитела	Константный домен HC (IgG1.3f) (без C-концевого K)	Аминокислота
134	13A3	IgG1.1f HC	Нуклеотид
135	8B9	IgG1.1f HC	Нуклеотид
136	8C4	IgG1.1f HC	Нуклеотид
137	17C3	IgG1.1f HC	Нуклеотид
138	9F6	IgG1.1f HC	Нуклеотид
139	3G4	IgG1.1f HC	Нуклеотид
140	17C8	IgG1.1f HC	Нуклеотид
141	13A3	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
142	8B9	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
143	8C4	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
144	17C3	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
145	9F6	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
146	3G4	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
147	17C8	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
148	13A3	IgG1.3f HC	Нуклеотид
149	8B9	IgG1.3f HC	Нуклеотид
150	8C4	IgG1.3f HC	Нуклеотид
151	17C3	IgG1.3f HC	Нуклеотид
152	9F6	IgG1.3f HC	Нуклеотид
153	3G4	IgG1.3f HC	Нуклеотид
154	17C8	IgG1.3f HC	Нуклеотид
155	13A3	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
156	8B9	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид

Фиг. 23 (Продолжение)

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
157	8C4	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
158	17C3	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
159	9F6	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
160	3G4	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
161	17C8	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
162	13A3, 17C3, 3G4	LC	Нуклеотид
163	8B9, 8C4, 17C8	LC	Нуклеотид
164	9F6 (VK3)	LC	Нуклеотид
165	9F6 (VK1)	LC	Нуклеотид
166	9F6 (VK2)	LC	Нуклеотид
167	13A3	VH	Нуклеотид
168	8B9	VH	Нуклеотид
169	8C4	VH	Нуклеотид
170	17C3	VH	Нуклеотид
171	9F6	VH	Нуклеотид
172	3G4	VH	Нуклеотид
173	17C8	VH	Нуклеотид
174	13A3, включая в себя следующие варианты 13A3: N60Q; N60S; N60A; D101E; P102V; P102Y; P102L; N60Q и P102Y; 13A3 (N60Q, D101E)	CDR1 (VH)	Нуклеотид
175	8B9, включая в себя вариант 8B9 (S61P)	CDR1 (VH)	Нуклеотид
176	8C4	CDR1 (VH)	Нуклеотид
177	17C3	CDR1 (VH)	Нуклеотид
178	9F6, включая в себя вариант 9F6 (A108T); 3G4; 17C8	CDR1 (VH)	Нуклеотид
179	13A3, включая в себя следующие варианты 13A3: D101E, P102V, P102Y и P102L	CDR2 (VH)	Нуклеотид
180	8B9	CDR2 (VH)	Нуклеотид
181	8C4	CDR2 (VH)	Нуклеотид
182	17C3	CDR2 (VH)	Нуклеотид
183	9F6, включая в себя вариант 9F6 (A108T)	CDR2 (VH)	Нуклеотид

Фиг. 23 (Продолжение)

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
184	3G4	CDR2 (VH)	Нуклеотид
185	17C8	CDR2 (VH)	Нуклеотид
186	13A3, включая в себя следующие варианты 13A3: N60Q, N60S, N60A	CDR3 (VH)	Нуклеотид
187	8B9, включая в себя вариант 8B9 (S61P)	CDR3 (VH)	Нуклеотид
188	8C4	CDR3 (VH)	Нуклеотид
189	17C3	CDR3 (VH)	Нуклеотид
190	9F6, включая в себя вариант 9F6 (A108T)	CDR3 (VH)	Нуклеотид
191	3G4	CDR3 (VH)	Нуклеотид
192	17C8	CDR3 (VH)	Нуклеотид
193	13A3, 17C3, 3G4	VL	Нуклеотид
194	8B9, 8C4, 17C8, 9F6 (VK3)	VL	Нуклеотид
195	9F6 (VK1)	VL	Нуклеотид
196	9F6 (VK2)	VL	Нуклеотид
197	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR1 (VL)	Нуклеотид
198	9F6 (VK1)	CDR1 (VL)	Нуклеотид
199	13A3, 8B9, 8C4, 17C3, 9F6 (VK2, VK3), 3G4, 17C8	CDR2 (VL)	Нуклеотид
200	9F6 (VK1)	CDR2 (VL)	Нуклеотид
201	13A3, 17C3, 3G4	CDR3 (VL)	Нуклеотид
202	8B9, 8C4, 9F6 (VK3), 17C8	CDR3 (VL)	Нуклеотид
203	9F6 (VK1)	CDR3 (VL)	Нуклеотид
204	9F6 (VK2)	CDR3 (VL)	Нуклеотид
205	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
206	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
207	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
208	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
209	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
210	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
211	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
212	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
355	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC	Нуклеотид

Фиг. 23 (Продолжение)

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
213	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
214	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC	Нуклеотид
215	13A3 (N60Q)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
216	13A3 (N60S)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
217	13A3 (N60A)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
218	13A3 (D101E)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
219	13A3 (P102V)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
220	13A3 (P102Y)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
221	13A3 (P102L)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
222	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
356	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
223	8B9 (S61P)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
224	9F6 (A108T)	IgG1.1f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
225	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
226	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
227	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
228	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
229	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
230	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
231	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
232	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
357	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
233	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
234	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC	Нуклеотид
235	13A3 (N60Q)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
236	13A3 (N60S)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
237	13A3 (N60A)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
238	13A3 (D101E)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
239	13A3 (P102V)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
240	13A3 (P102Y)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
241	13A3 (P102L)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
242	13A3 (N60Q, P102Y)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
358	13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
374	13A3 (N60Q, D101E) (TIM3.18)(T168C)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
243	8B9 (S61P)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид
244	9F6 (A108T)	IgG1.3f HC (без C-концевого K)	Нуклеотид

Фиг. 23 (Продолжение)

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
245	I3A3 (N60Q)	VH	Нуклеотид
246	I3A3 (N60S)	VH	Нуклеотид
247	I3A3 (N60A)	VH	Нуклеотид
248	I3A3 (D101E)	VH	Нуклеотид
249	I3A3 (P102V)	VH	Нуклеотид
250	I3A3 (P102Y)	VH	Нуклеотид
251	I3A3 (P102L)	VH	Нуклеотид
252	I3A3 (N60Q, P102Y)	VH	Нуклеотид
359	I3A3 (N60Q, D101E)	VH	Нуклеотид
253	8B9 (S61P)	VH	Нуклеотид
254	9F6 (A108T)	VH	Нуклеотид
255	I3A3 (N60Q); I3A3 (N60Q, P102Y); I3A3 (N60Q, D101E)	CDR2 (VH)	Нуклеотид
256	I3A3 (N60S)	CDR2 (VH)	Нуклеотид
257	I3A3 (N60A)	CDR2 (VH)	Нуклеотид
258	8B9 (S61P)	CDR2 (VH)	Нуклеотид
259	I3A3 (D101E)	CDR3 (VH)	Нуклеотид
260	I3A3 (P102V)	CDR3 (VH)	Нуклеотид
261	I3A3 (P102Y); I3A3 (N60Q, P102Y); I3A3 (N60Q, D101E)	CDR3 (VH)	Нуклеотид
262	I3A3 (P102L)	CDR3 (VH)	Нуклеотид
263	Все антитела	Константный домен HC (IgG1.1f)	Нуклеотид
264	Все антитела	Константный домен HC (IgG1.1f) (без C-концевого K)	Нуклеотид
265	Все антитела	Константный домен HC (IgG1.3f)	Нуклеотид
266	Все антитела	Константный домен HC (IgG1.3f) (без C-концевого K)	Нуклеотид
267		Сигнальный пептид	Аминокислота
268		Сигнальный пептид	Аминокислота
269		Сигнальный пептид	Аминокислота
270		Сигнальный пептид	Аминокислота
271		Сигнальный пептид	Аминокислота
361		Сигнальный пептид (TIM3.2-TIM3.18)	Аминокислота
272		Сигнальный пептид	Нуклеотид
273		Сигнальный пептид	Нуклеотид
274		Сигнальный пептид	Нуклеотид
275		Сигнальный пептид	Нуклеотид
276		Сигнальный пептид	Нуклеотид

Фиг. 23 (Продолжение)

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
362		Сигнальный пептид (TIM3.2-TIM3.18 HC)	Нуклеотид
363		Сигнальный пептид (TIM3.2-TIM3.18 LC)	Нуклеотид
277		IgG1 человека (аллотипический вариант)	Аминокислота
278		Легкая цепь каппа IgG1 человека	Аминокислота
279		LSPGK (С-конец тяжелой цепи)	Аминокислота
280		LSPG (С-конец тяжелой цепи)	Аминокислота
281		LSP (С-конец тяжелой цепи)	Аминокислота
282		X1X2X3X4YX5X6 (вырожденная последовательность CDR1 VH)	Аминокислота
283		X11X2X3X4GX5X6X7X8YX9X10X11X12X13X14 (вырожденная последовательность CDR2 VH)	Аминокислота
284		X1X2X3X4X5X6YGX7X8X9X10YGX11X12DX13X14X15X16X17X18 (вырожденная последовательность CDR3 VH)	Аминокислота
285		QQX1X2SX3X4X5T (вырожденная последовательность CDR1 VL)	Аминокислота
286		Изоформа 1 TIM3 (aa)	Аминокислота
287		Изоформа 2 TIM3 (aa)	Аминокислота
288		Изоформа 1 TIM3 (nt)	Нуклеотид
289		Изоформа 2 TIM3 (nt)	Нуклеотид
290		Внеклеточный домен TIM3	Аминокислота
291		Константный домен человеческого IgG1 дикого типа (такой же как IgG1za)	Аминокислота
292		Константный домен IgG4 человека	Аминокислота
293		Легкая цепь IgG1 VK2 9F6	Аминокислота
294		Константный домен IgG1.1 (использ. в антителах к TIM3)	Аминокислота
295		Константный домен IgG1.3 (использ. в антителах к TIM3)	Аминокислота
296		Остатки 37-43 зрелого ECD TIM3	Аминокислота
297		Остатки 57-83 зрелого ECD TIM3	Аминокислота
298		Остатки 90-99 зрелого ECD TIM3	Аминокислота
299		Остатки 1-99 зрелого ECD TIM3	Аминокислота
300		Линкер	Аминокислота
360		Белок TIM3 яванского макака	Аминокислота
301	13A3	hIgG4 HC	Аминокислота
302	13A3	hIgG4 HC (без С-концевого К)	Аминокислота
303	TIM3.5 - 13A3	IgG4P HC	Аминокислота
304	TIM3.5 - 13A3	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
305	TIM3.10-13A3 (N60Q)	IgG4P HC	Аминокислота
306	TIM3.10-13A3 (N60Q)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
307	TIM3.11 - 13A3 (N60S)	IgG4P HC	Аминокислота

Фиг. 23 (Продолжение)

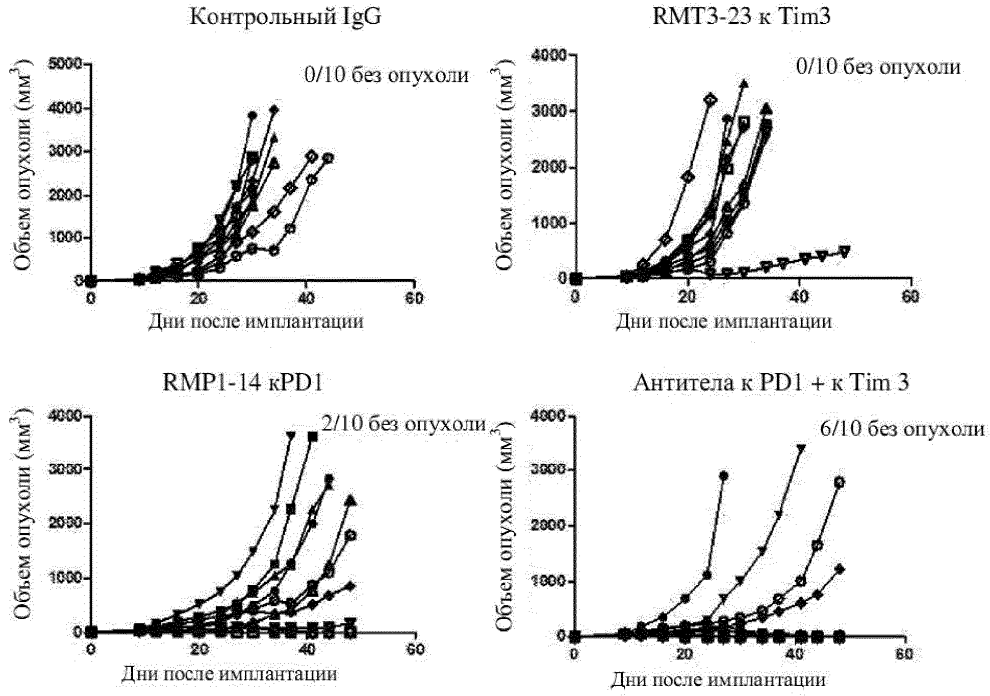
SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
308	TIM3.11 - 13A3 (N60S)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
309	TIM3.12 - 13A3 (N60A)	IgG4P HC	Аминокислота
310	TIM3.12 - 13A3 (N60A)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
311	TIM3.13 - 13A3 (D101E)	IgG4P HC	Аминокислота
312	TIM3.13 - 13A3 (D101E)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
313	TIM 3.14-13A3 (P102V)	IgG4P HC	Аминокислота
314	TIM 3.14-13A3 (P102V)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
315	TIM3.15-13A3 (P102Y)	IgG4P HC	Аминокислота
316	TIM3.15-13A3 (P102Y)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
317	TIM3.16-13A3 (P102L)	IgG4P HC	Аминокислота
318	TIM3.16-13A3 (P102L)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
319	TIM3.17-13A3 (N60Q, P102Y)	IgG4P HC	Аминокислота
320	TIM3.17-13A3 (N60Q, P102Y)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
353	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG4P HC	Аминокислота
354	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
321	8B9	IgG1za HC	Аминокислота
322	8B9	IgG1za HC (без С-концевого К)	Аминокислота
323	8B9	IgG4P HC	Аминокислота
324	8B9	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
325	TIM3.8-8B9 (S61P)	IgG4P HC	Аминокислота
326	TIM3.8-8B9 (S61P)	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
327	8C4	IgG1za HC	Аминокислота
328	8C4	IgG1za HC (без С-концевого К)	Аминокислота
329	TIM3.6-8C4	IgG4P HC	Аминокислота
330	TIM3.6-8C4	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
331	17C3	IgG1za HC	Аминокислота
332	17C3	IgG1za HC (без С-концевого К)	Аминокислота
333	TIM3.2-17C3	IgG4P HC	Аминокислота
334	TIM3.2-17C3	IgG4P HC (без С-концевого К)	Аминокислота
335	9F6	IgG1za HC	Аминокислота

Фиг. 23 (Продолжение)

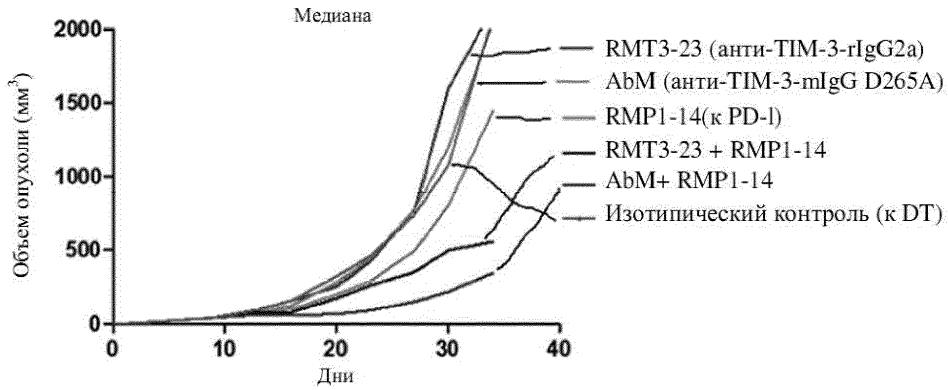
SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
336	9F6	IgG1za HC (без C-концевого K)	Аминокислота
337	9F6	IgG4P HC	Аминокислота
338	9F6	IgG4P HC (без C-концевого K)	Аминокислота
339	TIM3.7-9F6 (A108T)	IgG4P HC	Аминокислота
340	TIM3.7-9F6 (A108T)	IgG4P HC (без C-концевого K)	Аминокислота
341	3G4	IgG1za HC	Аминокислота
342	3G4	IgG1za HC (без C-концевого K)	Аминокислота
343	TIM3.4-3G4	IgG4P HC	Аминокислота
344	TIM3.4-3G4	IgG4P HC (без C-концевого K)	Аминокислота
345	17C8	IgG4 HC	Аминокислота
346	17C8	IgG4 HC	Аминокислота
347	TIM3.9-17C8	IgG4P HC	Аминокислота
348	TIM3.9-17C8	IgG4P HC (без C-концевого K)	Аминокислота
365	13A3	Тяжелая цепь Fab 6X His	Аминокислота
366	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	Тяжелая цепь Fab 6X His	Аминокислота
367		Остатки 49-62 зрелого внеклеточного домена TIM3 человека	Аминокислота
368		Остатки 111-127 зрелого внеклеточного домена TIM3 человека	Аминокислота
369		Остатки 40-62 зрелого внеклеточного домена TIM3 человека	Аминокислота
370		Остатки 66-77 зрелого внеклеточного домена TIM3 человека	Аминокислота
371		Остатки 78-95 зрелого внеклеточного домена TIM3 человека	Аминокислота
372		Остатки 110-127 зрелого внеклеточного домена TIM3 человека	Аминокислота
373		Остатки 119-127 зрелого внеклеточного домена TIM3 человека	Аминокислота
375		hTIM3-mFc	Аминокислота
376		СупоTIM3-MycHisAvi	Аминокислота
377		hTIM3_IgV	Аминокислота
378	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC с сигнальным пептидом	Аминокислота
379	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (без C-концевого K) с сигнальным пептидом	Аминокислота
380	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC с сигнальной последовательностью	Нуклеотид
381	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (без C-концевого K) с сигнальной последовательностью	Нуклеотид
382	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (T168C) с сигнальной последовательностью	Нуклеотид

SEQ ID NO.	Антитело	Описание	AA/NT
383	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	IgG1.3f HC (T168C) (без C-концевого K) с сигнальной последовательностью	Нуклеотид
384	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	LC с сигнальным пептидом	Аминокислота
385	TIM3.18-13A3 (N60Q, D101E)	LC с сигнальной последовательностью	Нуклеотид

Фиг. 23 (Продолжение)



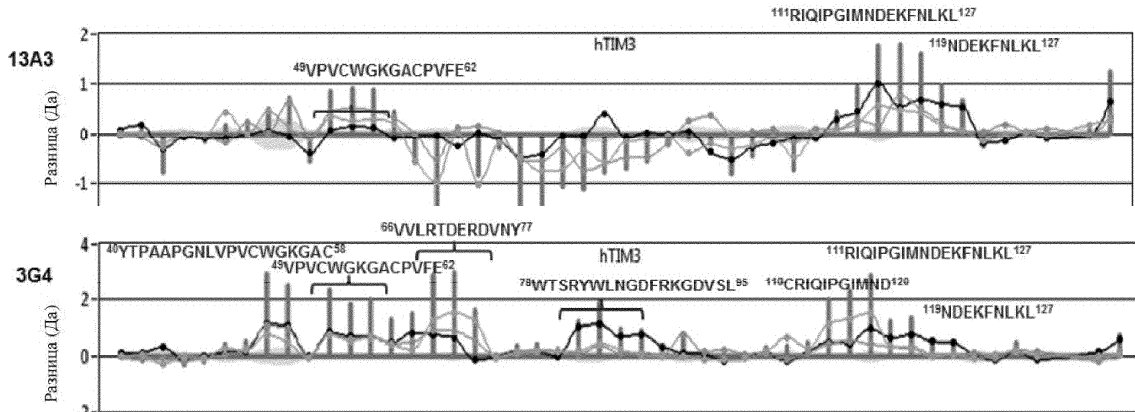
Фиг. 24А



Фиг. 24В

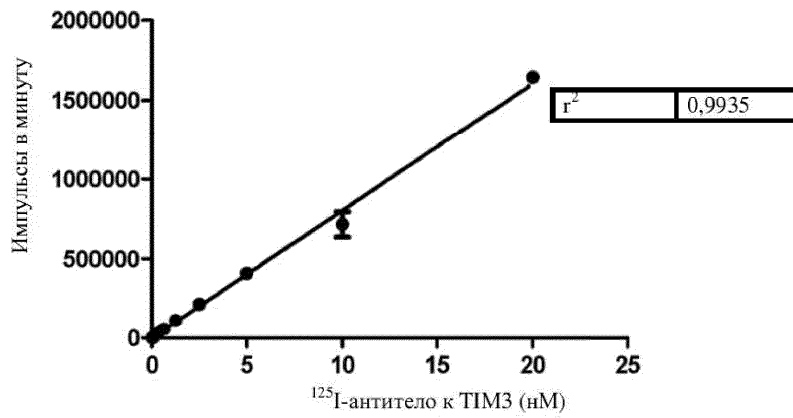


Фиг. 25



Фиг. 26

Стандартная кривая ¹²⁵I-антитела к TIM3

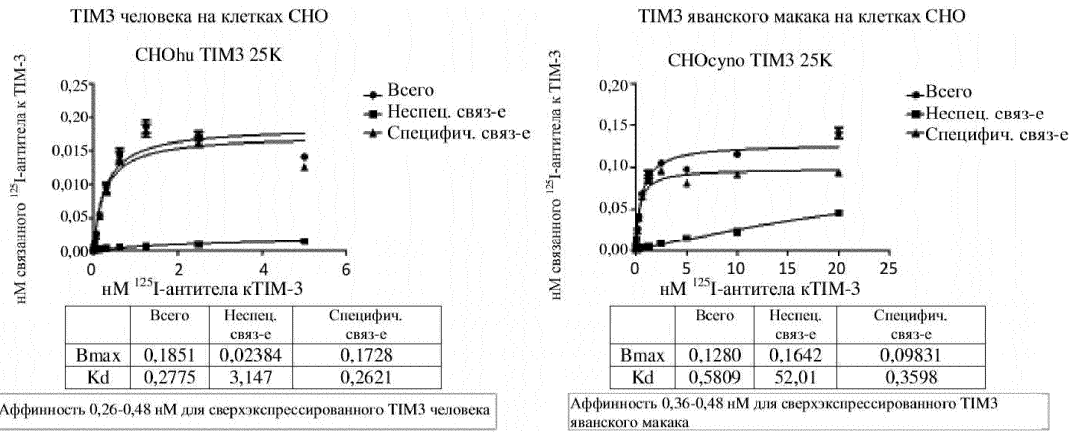


Y=mX+b
 Y = 80220(1 нМ) + 899,3
 Y = 81119,3

1нМ 125I-Ab = 81119,3 имп/мин

Уклон	80220±1526
Отсекаемый Y отрезок, когда X=0,0	899,3 ±11140

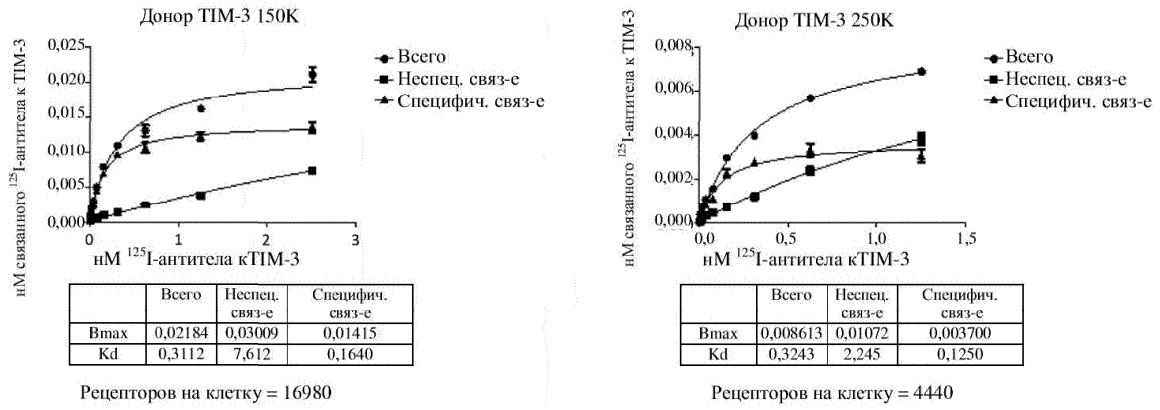
Фиг. 27А



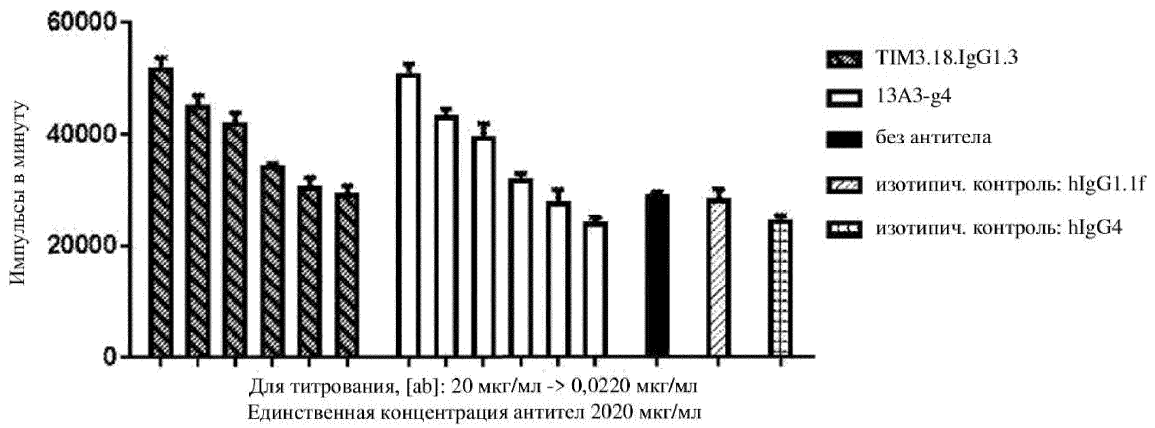
414720 рецепторов на клетку

235944 рецепторов на клетку

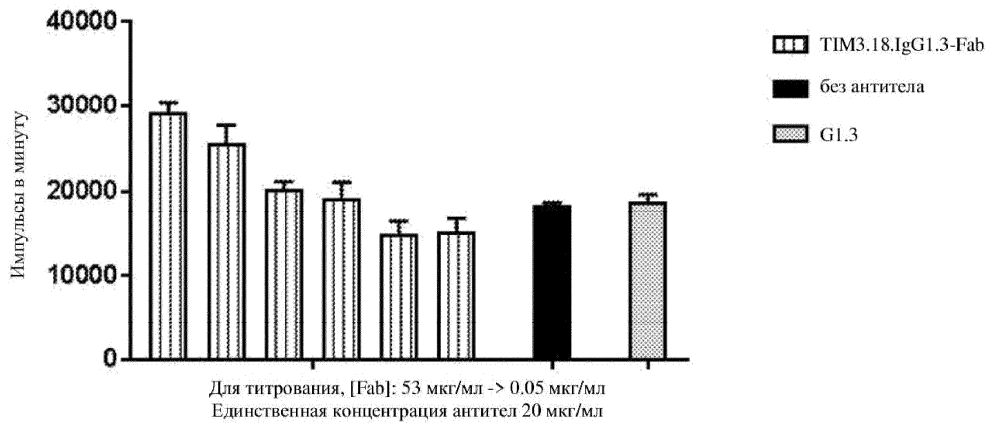
Фиг. 27В



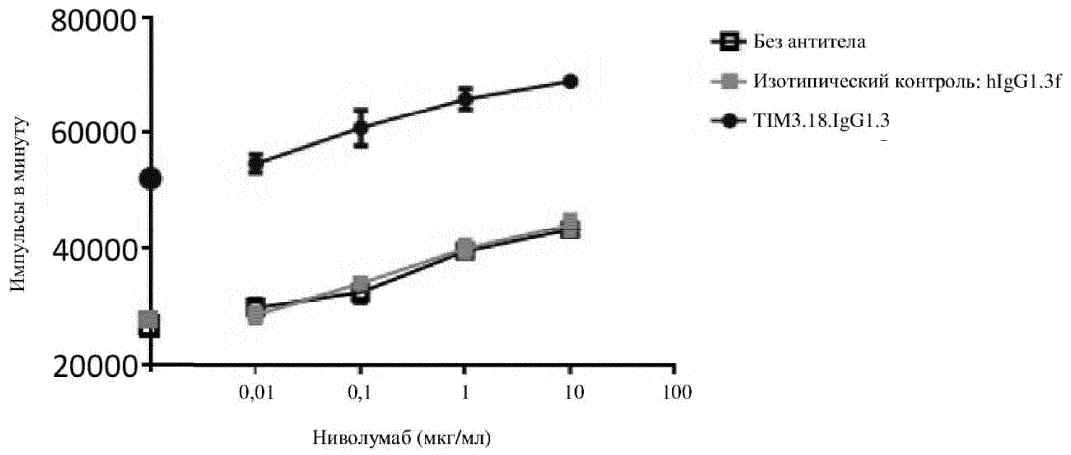
Фиг. 28



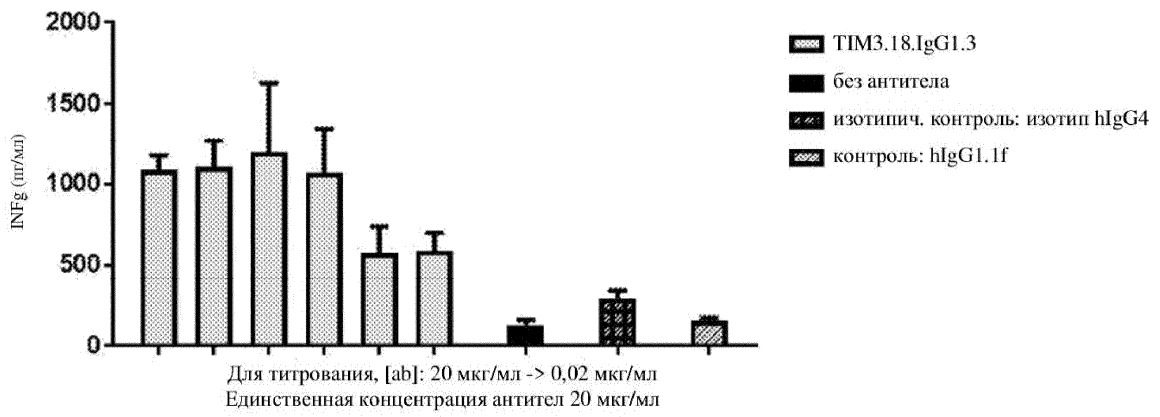
Фиг. 29А



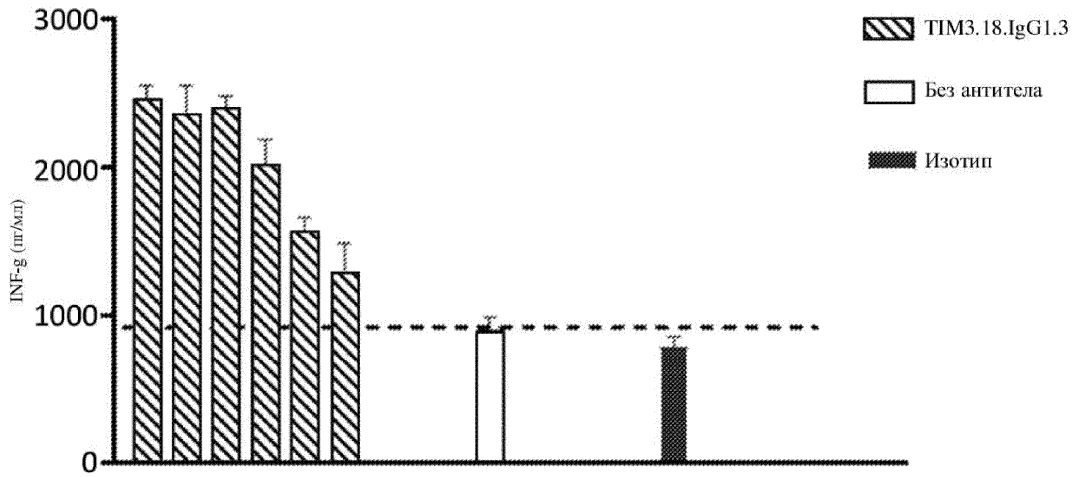
Фиг. 29В



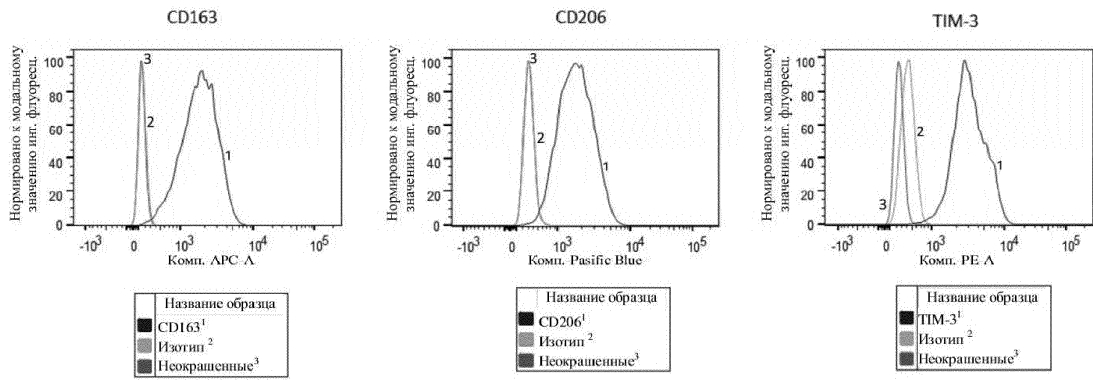
Фиг. 30



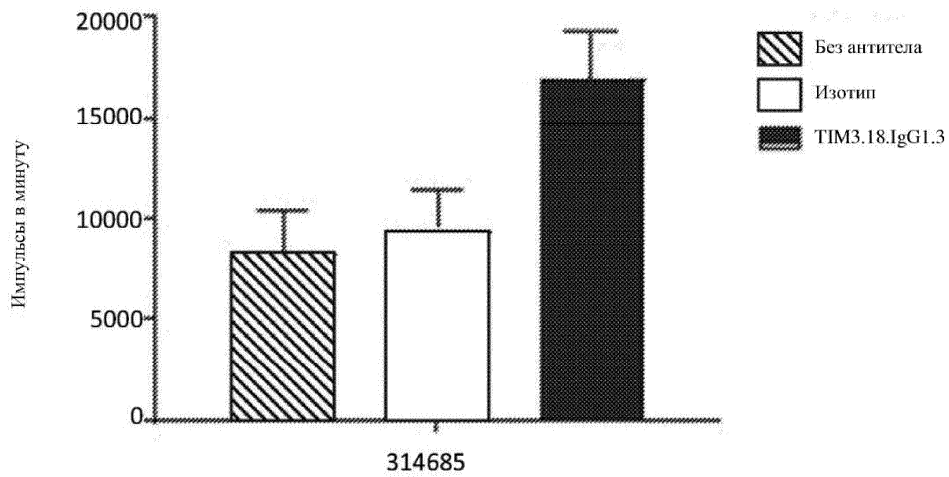
Фиг. 31



Фиг. 32



Фиг. 33



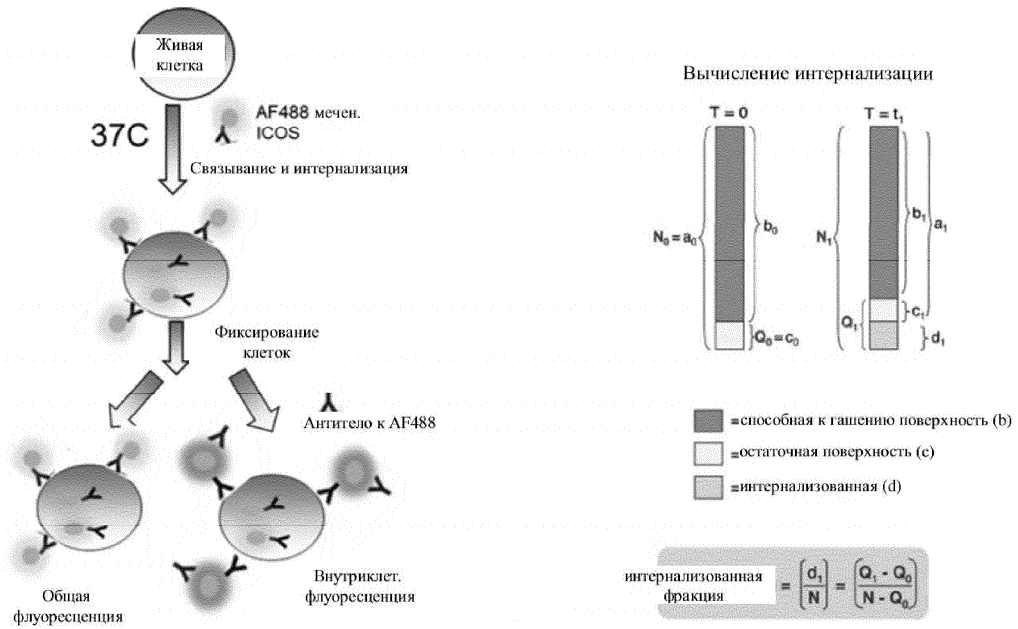
Фиг. 34



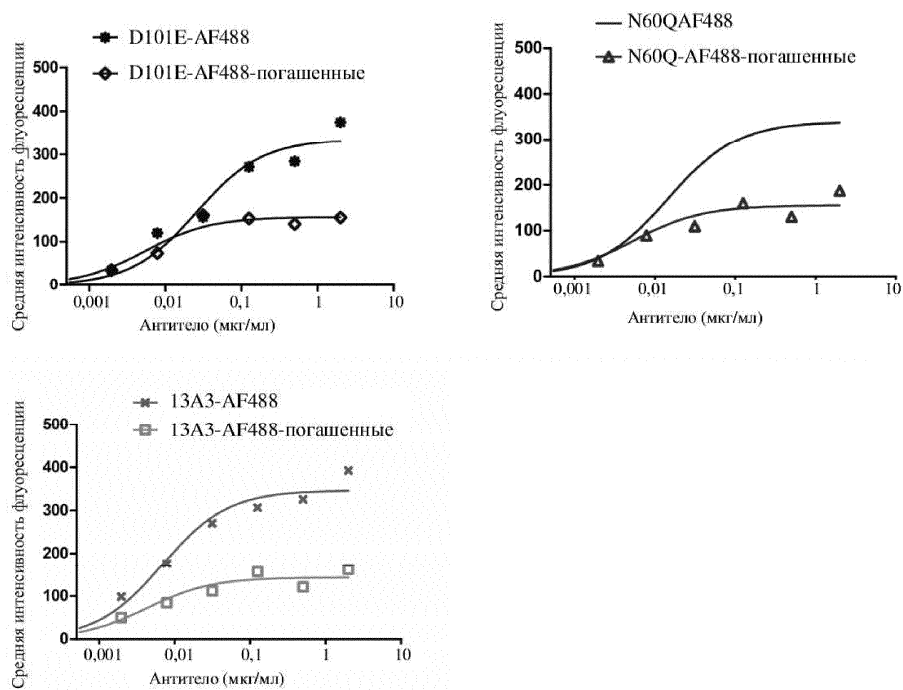
Фиг. 35



Фиг. 36

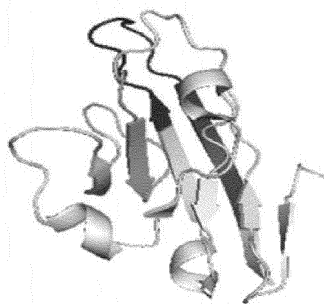


Фиг. 37



Фиг. 38

13A3

 $^{49}\text{VPVCWGKGACPVFE}^{62}$ $^{111}\text{RIQIPGIMNDEKFNLKL}^{127}$

Фиг. 39А

044112

3G4



⁴⁰YTPAAPGNLVPVCWGKGAC⁵⁸

⁴⁹VPVCWGKGACPVFE⁶²

⁶⁶VVLRD⁷⁷DERDVNY⁷⁷

⁷⁸WTSRYWLN⁹⁵GDFRKG⁹⁵DVSL⁹⁵

¹¹¹RIQIPGIMNDEKFN¹²⁷LKL¹²⁷

Фиг. 39В



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2
