

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application ELI LILLY AND COMPANY is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1 (ii)		ELI LILLY AND COMPANY is entitled as employer of the inventor, LI, Yiwen
VIII-2-1 (ii)		ELI LILLY AND COMPANY is entitled as employer of the inventor, ZHANG, Yi
VIII-2-1 (iv)		an assignment from LI, Yiwen to ELI LILLY AND COMPANY, dated 08 December 2016 (08.12.2016)
VIII-2-1 (iv)		an assignment from ZHANG, Yi to ELI LILLY AND COMPANY, dated 08 December 2016 (08.12.2016)
VIII-2-1 (iv)		an assignment from LI, Yiwen to ELI LILLY AND COMPANY, dated 10 October 2017 (10.10.2017)
VIII-2-1 (iv)		an assignment from ZHANG, Yi to ELI LILLY AND COMPANY, dated 04 October 2017 (04.10.2017)

VIII-2-2	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application INNOVENT BIOLOGICS (SUZHOU) CO. LTD. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-2 (iv)		an assignment from ELI LILLY AND COMPANY to INNOVENT BIOLOGICS (SUZHOU) CO. LTD., dated 08 November 2017 (08.11.2017)
VIII-2-2 (iv)		an assignment from ELI LILLY AND COMPANY to INNOVENT BIOLOGICS (SUZHOU) CO. LTD., dated 17 November 2017 (17.11.2017)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference X21315	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2017/064480	International filing date (<i>day/month/year</i>) 4 December 2017 (04-12-2017)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 8 December 2016 (08-12-2016)
Applicant ELI LILLY AND COMPANY		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 6 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2017/064480

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13~~ter~~.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13~~ter~~.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13~~ter~~.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/064480

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K16/28 A61P35/00

ADD. A61K39/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2016/007513 A1 (DANA FARBER CANCER INST INC [US]) 14 January 2016 (2016-01-14)	1-36
Y	figure 10B page 5, paragraph 0029 - page 6, paragraph 0030 page 18, paragraph 0089	1-36
X	WO 2014/179664 A2 (ANAPTYSBIO INC [US]) 6 November 2014 (2014-11-06)	1-36
Y	page 37, paragraph 0111 page 40, paragraph 0121	1-36
	----- -/--	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 March 2018

Date of mailing of the international search report

06/04/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Malamoussi, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/064480

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JENNIFER E. KIM ET AL: "Combination Therapy with Anti-PD-1, Anti-TIM-3, and Focal Radiation Results in Regression of Murine Gliomas", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 23, no. 1, 29 June 2016 (2016-06-29), pages 124-136, XP055406617, US ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1535	1-36
Y	abstract page 125, right-hand column, paragraph 2	1-36
X	----- CN 103 721 255 A (UNIV SOOCHOW) 16 April 2014 (2014-04-16)	1-36
Y	abstract figure 9	1-36
X	----- SHOHEI KOYAMA ET AL: "Adaptive resistance to therapeutic PD-1 blockade is associated with upregulation of alternative immune checkpoints", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 7, 17 February 2016 (2016-02-17), page 10501, XP055309591, DOI: 10.1038/ncomms10501	1-36
Y	abstract figure 3 page 8, left-hand column, paragraph 2	1-36
X	----- WO 2016/161270 A1 (ANAPTYSBIO INC [US]) 6 October 2016 (2016-10-06)	1-36
Y	example 1 table 1 example 3 page 37, paragraph 0101 figure 3	1-36
X	----- S. F. NGIOW ET AL: "Anti-TIM3 Antibody Promotes T Cell IFN- γ -Mediated Antitumor Immunity and Suppresses Established Tumors", CANCER RESEARCH, vol. 71, no. 10, 23 March 2011 (2011-03-23), pages 3540-3551, XP055181433, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0096	1-36
Y	abstract page 3541, left-hand column, paragraph 3 figures 6, 7	1-36
Y	----- US 2012/189617 A1 (TAKAYANAGI SHIN-ICHIRO [JP] ET AL) 26 July 2012 (2012-07-26) examples 8-13	1-36
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/064480

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2013/006490 A2 (CELLERANT THERAPEUTICS INC [US]; KARSUNKY HOLGER [US]; JIANG YING-PING) 10 January 2013 (2013-01-10) example 1	1-36
A	----- YUNHUI ZONG ET AL: "Identification of Co-inhibitory Receptors PD-1 and TIM-3 on T Cells from Gastric Cancer Patients", IMMUNOTHERAPY: OPEN ACCESS, vol. 01, no. 01, 1 January 2016 (2016-01-01), XP055456292, DOI: 10.4172/2471-9552.1000105 the whole document -----	1-36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/064480

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016007513 A1	14-01-2016	AU 2015287969 A1 CA 2958643 A1 EP 3166975 A1 US 2017198039 A1 WO 2016007513 A1	19-01-2017 14-01-2016 17-05-2017 13-07-2017 14-01-2016
WO 2014179664 A2	06-11-2014	AU 2014259719 A1 CA 2910278 A1 CN 105339389 A EP 2992017 A2 HK 1219743 A1 JP 2016523516 A KR 20160034247 A RU 2015151505 A SG 11201508528T A US 2016075783 A1 US 2018051082 A1 WO 2014179664 A2	17-12-2015 06-11-2014 17-02-2016 09-03-2016 13-04-2017 12-08-2016 29-03-2016 07-06-2017 27-11-2015 17-03-2016 22-02-2018 06-11-2014
CN 103721255 A	16-04-2014	NONE	
WO 2016161270 A1	06-10-2016	AU 2016242964 A1 CA 2981520 A1 EP 3277321 A1 KR 20170133458 A SG 11201707705U A WO 2016161270 A1	09-11-2017 06-10-2016 07-02-2018 05-12-2017 30-10-2017 06-10-2016
US 2012189617 A1	26-07-2012	AU 2011262758 A1 CA 2814155 A1 CN 103079644 A EP 2581113 A1 JP 6158511 B2 JP 2017189168 A JP WO2011155607 A1 KR 20130132695 A TW 201207397 A US 2012189617 A1 US 2014044728 A1 US 2017088616 A1 WO 2011155607 A1	10-01-2013 15-12-2011 01-05-2013 17-04-2013 05-07-2017 19-10-2017 15-08-2013 05-12-2013 16-02-2012 26-07-2012 13-02-2014 30-03-2017 15-12-2011
WO 2013006490 A2	10-01-2013	US 2013022623 A1 US 2015086574 A1 US 2017313783 A1 WO 2013006490 A2	24-01-2013 26-03-2015 02-11-2017 10-01-2013

SEQUENCE LISTING

<110> Eli Lilly and Company

<120> ANTI-TIM-3 ANTIBODIES FOR COMBINATION WITH ANTI-PD-1 ANTIBODIES

<130> X21315

<150> 62/431480

<151> 2016-12-08

<160> 34

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 130

<212> PRT

<213> Human

<400> 1

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln
20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu
35 40 45

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly
50 55 60

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser
65 70 75 80

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr
85 90 95

Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile
100 105 110

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val
115 120 125

Ile Lys
130

<210> 2
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 2

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr Met Ser
1 5 10

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 3

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 4

Ala Arg Tyr Ala Arg Thr Ala Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 5

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Tyr Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 6

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 7

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro Thr
1 5

<210> 8
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 8

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Ala Arg Thr Ala Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 9
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 9

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Gly Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Tyr Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 10
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 10

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Ala Arg Thr Ala Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 11
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 11

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Gly Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Tyr Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 12
<211> 1341
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 12
gaggtgcagc tgttgagtc tggcggaggg ctggtgcagc cgggagggcag cctcaggctg
60

agctgcgctg cgagcggggt tactttctcg tcgtactata tgcgtgggt gagacaagca
120

ccaggtaaag gacttgagtg ggtgtccgct atctcaggca gcggaggatc cacctactac
180

gcggattcag tcaagggaag attcactatc tcgcgcgaca attccaagaa caccctgtac
240

ctccagatga actcgctgcg ggcagaagat acggccgtgt actactgtgc ccgctacgcc
300

cggaccgcct tcgacttggt gggtcaggga accctgggtca ctgtctcctc agctagcacc
360

aagggcccat cgggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
420

gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca
480

ggcgcactga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac
540

tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt
660

gacaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaag ccgagggggc accgtcagtc
720

ttcctcttcc ccccaaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca
780

tgcggtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtatgtggac
840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac
900

cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caagactggc tgaatggcaa ggagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaaagc cctcccatcc tccatcgaga aaacctctc caaagccaaa
1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag
1080

aaccaagtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag
1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc
1200

gacggctcct tcttcctcta ttccaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg
1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc
1320

ctctccctgt ctccgggcaa a
1341

<210> 13
<211> 642
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 13
gacatcgtga tgactcaaag cccttcaagc ctctcggcgt cagtcggtga tggcgtgacc
60

attacctgtc aagcatccca agacatctac aactacttga attggtacca gcagaagcca
120

gggaaagccc cgaagctgct gatctacgcc gcctcctcac ttcagagcgg agtgccatcc
180

cgcttttccg gatcggggag cggaacggat ttcactctga ccatctcgtc gctgcaaccg
240

gaggacttcg cgacttacta ttgccagcag gctaactcgt tcccgccac tttcggacag
300

ggcaccaagc tcgaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcc
360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat
420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggty gataacgccc tccaatcggg taactcccag
480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg
540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc
600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt
642

<210> 14
<211> 526
<212> PRT
<213> Human

<400> 14

Met Gly His Leu Ser Ala Pro Leu His Arg Val Arg Val Pro Trp Gln
1 5 10 15

Gly Leu Leu Leu Thr Ala Ser Leu Leu Thr Phe Trp Asn Pro Pro Thr
20 25 30

Thr Ala Gln Leu Thr Thr Glu Ser Met Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly
35 40 45

Lys Glu Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln Gln Leu Phe Gly
50 55 60

Tyr Ser Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Val
65 70 75 80

Gly Tyr Ala Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Asn Ser
85 90 95

Gly Arg Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val
100 105 110

Thr Gln Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp
115 120 125

Leu Val Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu
130 135 140

Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys
145 150 155 160

Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asp Thr Thr Tyr
165 170 175

Leu Trp Trp Ile Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln
180 185 190

Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn
195 200 205

Asp Thr Gly Pro Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn
210 215 220

Arg Ser Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Thr Tyr Gly Pro Asp Thr Pro
225 230 235 240

Thr Ile Ser Pro Ser Asp Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Ala Asn Leu Ser
245 250 255

Leu Ser Cys Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Leu
260 265 270

Ile Asn Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn
275 280 285

Ile Thr Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys His Ala Asn Asn Ser
290 295 300

Val Thr Gly Cys Asn Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Ile Val Thr Glu
305 310 315 320

Leu Ser Pro Val Val Ala Lys Pro Gln Ile Lys Ala Ser Lys Thr Thr
325 330 335

Val Thr Gly Asp Lys Asp Ser Val Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asn Asp
340 345 350

Thr Gly Ile Ser Ile Arg Trp Phe Phe Lys Asn Gln Ser Leu Pro Ser
355 360 365

Ser Glu Arg Met Lys Leu Ser Gln Gly Asn Thr Thr Leu Ser Ile Asn
370 375 380

Pro Val Lys Arg Glu Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Cys Glu Val Phe Asn
385 390 395 400

Pro Ile Ser Lys Asn Gln Ser Asp Pro Ile Met Leu Asn Val Asn Tyr
405 410 415

Asn Ala Leu Pro Gln Glu Asn Gly Leu Ser Pro Gly Ala Ile Ala Gly

420

425

430

Ile Val Ile Gly Val Val Ala Leu Val Ala Leu Ile Ala Val Ala Leu
 435 440 445

Ala Cys Phe Leu His Phe Gly Lys Thr Gly Arg Ala Ser Asp Gln Arg
 450 455 460

Asp Leu Thr Glu His Lys Pro Ser Val Ser Asn His Thr Gln Asp His
 465 470 475 480

Ser Asn Asp Pro Pro Asn Lys Met Asn Glu Val Thr Tyr Ser Thr Leu
 485 490 495

Asn Phe Glu Ala Gln Gln Pro Thr Gln Pro Thr Ser Ala Ser Pro Ser
 500 505 510

Leu Thr Ala Thr Glu Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Lys Gln
 515 520 525

<210> 15
 <211> 323
 <212> PRT
 <213> Human

<400> 15

Met Ala Phe Ser Gly Ser Gln Ala Pro Tyr Leu Ser Pro Ala Val Pro
 1 5 10 15

Phe Ser Gly Thr Ile Gln Gly Gly Leu Gln Asp Gly Leu Gln Ile Thr
 20 25 30

Val Asn Gly Thr Val Leu Ser Ser Ser Gly Thr Arg Phe Ala Val Asn
 35 40 45

Phe Gln Thr Gly Phe Ser Gly Asn Asp Ile Ala Phe His Phe Asn Pro
 50 55 60

Arg Phe Glu Asp Gly Gly Tyr Val Val Cys Asn Thr Arg Gln Asn Gly
 65 70 75 80

Ser Trp Gly Pro Glu Glu Arg Lys Thr His Met Pro Phe Gln Lys Gly
85 90 95

Met Pro Phe Asp Leu Cys Phe Leu Val Gln Ser Ser Asp Phe Lys Val
100 105 110

Met Val Asn Gly Ile Leu Phe Val Gln Tyr Phe His Arg Val Pro Phe
115 120 125

His Arg Val Asp Thr Ile Ser Val Asn Gly Ser Val Gln Leu Ser Tyr
130 135 140

Ile Ser Phe Gln Pro Pro Gly Val Trp Pro Ala Asn Pro Ala Pro Ile
145 150 155 160

Thr Gln Thr Val Ile His Thr Val Gln Ser Ala Pro Gly Gln Met Phe
165 170 175

Ser Thr Pro Ala Ile Pro Pro Met Met Tyr Pro His Pro Ala Tyr Pro
180 185 190

Met Pro Phe Ile Thr Thr Ile Leu Gly Gly Leu Tyr Pro Ser Lys Ser
195 200 205

Ile Leu Leu Ser Gly Thr Val Leu Pro Ser Ala Gln Arg Phe His Ile
210 215 220

Asn Leu Cys Ser Gly Asn His Ile Ala Phe His Leu Asn Pro Arg Phe
225 230 235 240

Asp Glu Asn Ala Val Val Arg Asn Thr Gln Ile Asp Asn Ser Trp Gly
245 250 255

Ser Glu Glu Arg Ser Leu Pro Arg Lys Met Pro Phe Val Arg Gly Gln
260 265 270

Ser Phe Ser Val Trp Ile Leu Cys Glu Ala His Cys Leu Lys Val Ala
275 280 285

Val Asp Gly Gln His Leu Phe Glu Tyr Tyr His Arg Leu Arg Asn Leu
290 295 300

Pro Thr Ile Asn Arg Leu Glu Val Gly Gly Asp Ile Gln Leu Thr His
305 310 315 320

Val Gln Thr

<210> 16
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 16

Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5 10

<210> 17
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 17

Leu Ile Ile Pro Met Phe Asp Thr Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 18
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 18

Ala Arg Ala Glu His Ser Ser Thr Gly Thr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 19

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 20

Ser Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 21

Gln Gln Ala Asn His Leu Pro Phe Thr
1 5

<210> 22
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 22

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Leu Ile Ile Pro Met Phe Asp Thr Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Val Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Glu His Ser Ser Thr Gly Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 23
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 23

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn His Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 24
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 24

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Leu Ile Ile Pro Met Phe Asp Thr Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Val Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Glu His Ser Ser Thr Gly Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 25
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 25

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Leu Ile Ile Pro Met Phe Asp Thr Ala Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Ala Ile Thr Val Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Glu His Ser Ser Thr Gly Thr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

<210> 26
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 26

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn His Leu Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 27
<211> 1347
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 27
caagtgcagc tgggtgcagtc cggcgctgag gtgaaaaaac ccggatcctc cgtcaagggtg
60

tcttgtaaag ccagcggcgg cacattcagc agctacgcca tctcctgggt gaggcaagct
120

cctggacagg gcctggaatg gatgggcctg atcatcccca tgttcgacac cgccggctac
180

gtcagaaat tccagggccg ggtcgccatt acagtggatg agagcaccag cacagcctac
240

atggagctca gctccctgag gagcgaagat accgccgtct actattgtgc ccgggctgag
300

catagcagca ccggcacctt cgactattgg ggccaggga cctgggtcac agtgagctcc
360

gcttcacaa aaggccccag cgtgtttccc ctggcccctt gtagcaggtc cacctccgaa
420

agcacagccg ctctgggctg cctgggtcaag gattacttcc ccgagcccgt gaccgtgtcc
480

tggaatagcg gcgctctcac atccggagtg catacctttc ctgccgtgct ccagtcctcc
540

ggcctgtact cctgagctc cgtgggtgacc gtcccttcca gctccctggg caccaagacc
600

tatacctgta acgtggacca caagccctcc aataccaagg tggataagcg ggtcgagtcc
660

aagtacggac ccccttgccc tccttgteet gtcctgaat tcctcggcgg acctagcgtc
720

tttctcttcc cccccaagcc caaggatacc ctgatgatct ccaggacccc cgaggtgaca
780

tgcgtcgtgg tcgatgtgtc ccaggaggat cctgaagtgc agttcaactg gtacgtggac
840

ggcgtcgaag tgcataacgc caagaccaag cccagggagg agcagttcaa ctccacctat
900

cgggtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat caggactggc tcaacggcaa agagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaggg actccccctcc agcatcgaga agaccattag caaggccaaa
1020

ggccaaccca gggagcctca ggtatatacg ctgcccccca gccaggagga gatgacaaa
1080

aaccaggtca gcctcacctg tctgggtcaag ggcttctacc ctagcgacat tgctgtcgag
1140

tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tataaaacca cccccctgt cctggactcc
1200

gacggatcct tcttcctgta ctccaggctg acagtcgaca agtcccgggtg gcaagaggga
1260

aacgtcttct cctgctccgt gatgcacgaa gctctccaca accactacac ccagaagagc
1320

ctcagcctgt ccctgggcaa atgatga
1347

<210> 28

<211> 1338

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 28

caggtgcagc tgggtccagtc aggggctgaa gtgaagaagc ccggcagctc cgtgaagggtg
60

tcttgcaagg ccagcggcgg aacattctcc agttacgcca tctcttgggt gcggcaggct
120

ccaggccagg gcctggagtg gatgggcctg atcatcccca tgttcgacac cgccgggtat
180

gccagaagt ttcagggcag agtggcaatc acagtggacg agagcacctc cacagcctac
240

atggagctgt ctagcctgag atccgaggat accgccgtgt attattgtgc ccgggccgaa
300

cacagctcta cagggacttt cgactactgg ggccagggca ccctgggtgac agtgtcctct
360

gctagcacca agggcccatc ggtcttcccg ctgcgcctt gctccaggag cacctccgag
420

agcacagccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacggtgtcg
480

tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtctct acagtcctca
540

ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc
600

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc
660

aaatatggtc ccccatgccc accctgccc gcacctgagg ccgccggggg accatcagtc
720

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg
780

tgcgtgggtg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtatgttgat
840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac
900

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag
960

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
1020

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaagaaga aatgaccaa
1080

aaccaagtca gctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag
1140

tgggaaagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc
1200

gacggctcct tcttctctta ctcccgtcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg
1260

aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc
1320

ctctccctgt ctctgggt
1338

<211> 648
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 29

Gly Ala Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Ala Thr Gly Ala Cys Ala Cys
1 5 10 15

Ala Gly Thr Cys Cys Cys Cys Thr Ala Gly Cys Thr Cys Cys Gly Thr
20 25 30

Gly Thr Cys Cys Gly Cys Thr Thr Cys Cys Gly Thr Gly Gly Gly Ala
35 40 45

Gly Ala Cys Ala Gly Gly Gly Thr Gly Ala Cys Ala Ala Thr Cys Ala
50 55 60

Cys Ala Thr Gly Cys Ala Gly Gly Gly Cys Thr Thr Cys Cys Cys Ala
65 70 75 80

Gly Gly Gly Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly
85 90 95

Cys Thr Gly Gly Cys Thr Thr Gly Gly Thr Ala Thr Cys Ala Gly Cys
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Gly Cys Cys Cys Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys
115 120 125

Cys Cys Cys Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala Thr Cys
130 135 140

Ala Gly Cys Gly Cys Thr Gly Cys Thr Ala Gly Cys Thr Cys Cys Cys
145 150 155 160

Thr Gly Cys Ala Gly Thr Cys Cys Gly Gly Ala Gly Thr Gly Cys Cys
165 170 175

Thr Thr Cys Cys Ala Gly Gly Thr Thr Cys Thr Cys Cys Gly Gly Cys

180								185				190			
Thr	Cys	Cys	Gly	Gly	Ala	Ala	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Ala	Cys	Cys	Gly
		195					200					205			
Ala	Cys	Thr	Thr	Cys	Ala	Cys	Cys	Cys	Thr	Gly	Ala	Cys	Cys	Ala	Thr
	210					215					220				
Cys	Thr	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Cys	Cys
225					230					235					240
Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Thr	Thr	Cys	Gly	Cys	Cys	Ala	Cys	Cys	Thr
				245					250					255	
Ala	Cys	Thr	Ala	Cys	Thr	Gly	Cys	Cys	Ala	Ala	Cys	Ala	Gly	Gly	Cys
			260					265					270		
Cys	Ala	Ala	Cys	Cys	Ala	Cys	Cys	Thr	Gly	Cys	Cys	Cys	Thr	Thr	Cys
		275					280					285			
Ala	Cys	Cys	Thr	Thr	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys	Ala
	290					295					300				
Cys	Cys	Ala	Ala	Gly	Gly	Thr	Gly	Gly	Ala	Gly	Ala	Thr	Cys	Ala	Ala
305					310					315					320
Gly	Ala	Gly	Gly	Ala	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Gly	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys
				325					330					335	
Cys	Cys	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Thr	Thr	Cys	Ala	Thr	Cys	Thr
			340					345					350		
Thr	Thr	Cys	Cys	Cys	Cys	Cys	Cys	Ala	Gly	Cys	Gly	Ala	Cys	Gly	Ala
		355					360					365			
Gly	Cys	Ala	Gly	Cys	Thr	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Gly	Cys	Gly	Gly	Cys
	370					375					380				
Ala	Cys	Cys	Gly	Cys	Cys	Thr	Cys	Cys	Gly	Thr	Gly	Gly	Thr	Gly	Thr
385					390					395					400

Gly Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala Ala Cys Ala Ala Cys Thr Thr
405 410 415

Cys Thr Ala Thr Cys Cys Cys Cys Gly Gly Gly Ala Gly Gly Cys Cys
420 425 430

Ala Ala Gly Gly Thr Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Ala Ala Gly Gly
435 440 445

Thr Cys Gly Ala Cys Ala Ala Thr Gly Cys Cys Cys Thr Gly Cys Ala
450 455 460

Gly Ala Gly Cys Gly Gly Cys Ala Ala Cys Thr Cys Cys Cys Ala Gly
465 470 475 480

Gly Ala Gly Ala Gly Cys Gly Thr Gly Ala Cys Cys Gly Ala Gly Cys
485 490 495

Ala Gly Gly Ala Cys Ala Gly Cys Ala Ala Gly Gly Ala Cys Thr Cys
500 505 510

Cys Ala Cys Cys Thr Ala Cys Thr Cys Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys
515 520 525

Thr Cys Cys Ala Cys Cys Cys Thr Gly Ala Cys Ala Cys Thr Gly Thr
530 535 540

Cys Cys Ala Ala Gly Gly Cys Cys Gly Ala Cys Thr Ala Cys Gly Ala
545 550 555 560

Gly Ala Ala Gly Cys Ala Cys Ala Ala Gly Gly Thr Gly Thr Ala Cys
565 570 575

Gly Cys Cys Thr Gly Cys Gly Ala Gly Gly Thr Gly Ala Cys Ala Cys
580 585 590

Ala Cys Cys Ala Gly Gly Gly Cys Cys Thr Gly Ala Gly Cys Thr Cys
595 600 605

Cys Cys Cys Cys Gly Thr Gly Ala Cys Cys Ala Ala Gly Thr Cys Cys

610		615		620
Thr Thr Cys Ala Ala Cys Ala Gly Gly Gly Gly Cys Gly Ala Gly Thr				
625		630		640
Gly Cys Thr Gly Ala Thr Gly Ala				
	645			
<210>	30			
<211>	440			
<212>	PRT			
<213>	Artificial Sequence			
<220>				
<223>	Synthetic Construct			
<400>	30			
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg				
1	5	10	15	
Ser Leu Arg Leu Asp Cys Lys Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Ser				
	20	25	30	
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val				
	35	40	45	
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Arg Tyr Tyr Ala Asp Ser Val				
	50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe				
65	70	75	80	
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85	90	95	
Ala Thr Asn Asp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser				
	100	105	110	
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser				
	115	120	125	
Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp				

130						135										140
Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	
145					150					155					160	
Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	
				165					170					175		
Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	
			180					185					190			
Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	
		195					200					205				
Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	
	210					215					220					
Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	
225					230					235					240	
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	
				245					250					255		
Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	
			260					265					270			
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	
		275					280					285				
Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	
	290					295					300					
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	
305					310					315					320	
Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	
				325					330					335		
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	
			340					345					350			

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440

<210> 31
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 31

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Trp Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 32
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic Construct

<400> 32

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Asn Pro Ser Asn Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asn Arg Val Thr Leu Thr Thr Asp Ser Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gln Phe Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Arg Phe Asp Met Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

[illegible]

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 33

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Lys Gly Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
35 40 45

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Tyr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65 70 75 80

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
85 90 95

Asp Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 34
<211> 288
<212> PRT
<213> Human

<400> 34

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
180 185 190

Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro
225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
245 250 255

Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
275 280 285

ANTICUERPOS ANTI-TIM-3 PARA COMBINAR CON ANTICUERPOS ANTI-PD-1

La presente invención se encuentra en el campo de la medicina. Particularmente, la presente invención se refiere a anticuerpos dirigidos a la proteína 3 que contiene el dominio de mucina y el dominio de inmunoglobulina de los linfocitos T (Tim-3) (SEQ ID NO: 1) que se puede combinar con anticuerpos dirigidos a PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), composiciones que comprenden tales anticuerpos anti-Tim-3 humana o anticuerpos anti-PD-1 humana, y métodos para usar tales anticuerpos anti-Tim-3 humana en combinación con anticuerpos anti-PD-1 humana para el tratamiento de tumores sólidos y hematológicos solos o en combinación adicional con quimioterapia, radiación ionizante, y otros tratamientos contra el cáncer.

Las células tumorales escapan a la detección y eliminación por parte del sistema inmunitario a través de múltiples mecanismos, algunos de los cuales incluyen la manipulación de vías del punto de control inmunitario. Las vías del punto de control inmunitario se utilizan en el mantenimiento de la autotolerancia y en la regulación de la activación de los linfocitos T, pero las células cancerosas pueden manipular estas vías para prolongar la supervivencia tumoral. La vía PD-1/ligando 1 de muerte celular programada 1 humana (PD-L1) es uno de tales puntos de control inmunitario. La PD-1 humana (SEQ ID NO: 34) se expresa en linfocitos T, y se ha demostrado que la fijación de PD-L1 o PD-L2 a PD-1 inhibe la proliferación de linfocitos T y la producción de citocinas. Además, se sabe que algunos tumores expresan PD-L1 y PD-L2 y que tal expresión puede contribuir a la inhibición de la respuesta inmunitaria intratumoral.

Además de la vía PD-1/PD-L1, los linfocitos T que reconocen antígenos tumorales también pueden expresar otros receptores de punto de control, tales como Tim-3. En particular, los linfocitos T que expresan Tim-3 pueden exhibir un fenotipo agotado caracterizado por un deterioro en las funciones citotóxicas, la producción de citocinas efectoras y la proliferación. En este sentido, se ha demostrado que los anticuerpos anti-Tim-3 pueden restaurar la inmunidad antitumoral en algunos modelos murinos de cáncer. Además, también se ha demostrado que algunos pacientes que desarrollan resistencia adaptativa al tratamiento anti-PD-1 muestran una regulación ascendente de Tim-3 en sus linfocitos T.

Los anticuerpos dirigidos a Tim-3 humana son conocidos. Los anticuerpos humanizados contra Tim-3 humana se describen en WO15117002. MBG453, un anticuerpo anti-Tim-3 humana, se está evaluando actualmente en ensayos clínicos en seres humanos como un agente único y en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 humana. Sin embargo, ningún anticuerpo dirigido a Tim-3 ha sido evaluado para su uso terapéutico en seres humanos ni tampoco se ha demostrado que ningún anticuerpo anti-Tim-3 humana mostrara eficacia contra tumores humanos cuando se

combina con un anticuerpo anti-PD-1 humana. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de anticuerpos anti-Tim-3 humana que puedan combinarse con anticuerpos anti-PD-1 humana, así como otros tratamientos para tratar tipos de cáncer humano.

Se ha demostrado que Tim-3 (SEQ ID NO: 1) interactúa con galectina-9 (SEQ ID NO: 15), fosfatidilserina ($C_{13}H_{24}NO_{10}P$), grupo de alta movilidad 1 (HMGB1) y molécula de adhesión celular 1 relacionada con el antígeno carcinoembrionario (CEACAM1) (SEQ ID NO: 14). Debido a que todos los ligandos de Tim-3 mencionados anteriormente no son ligandos exclusivos de Tim-3, es deseable proporcionar anticuerpos anti-Tim-3 terapéuticos que bloqueen diferencialmente la actividad de dichos ligandos, ya que estos ligandos pueden regular el sistema inmunitario independientemente de Tim 3. Tal estrategia puede proporcionar formas alternativas para modular más específicamente la actividad de Tim-3, lo que permite tratamientos personalizados a base de inmunooncología para los pacientes. Además, tales anticuerpos anti-Tim-3 pueden proporcionar opciones para tratamientos conjuntos con anticuerpos anti-PD-1 humana. Por lo tanto, también sigue existiendo la necesidad de proporcionar anticuerpos que se fijen a Tim-3 humana e inhiban las interacciones de Tim-3 con algunos de los ligandos de Tim-3, pero no con otros, y que puedan combinarse con anticuerpos anti-PD-1 humana.

Los anticuerpos anti-Tim-3 humana descritos en la presente pueden bloquear la fijación de Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) a la galectina-9 humana (SEQ ID NO: 15) y la fosfatidilserina mientras que simultáneamente no bloquean la fijación de Tim-3 humana y CEACAM1 humana (SEQ ID NO: 14). Sorprendentemente, los anticuerpos anti-Tim-3 de la presente invención se pueden combinar con un anticuerpo anti-PD-1 humana para mejorar la remisión tumoral. Sorprendentemente, los anticuerpos anti-Tim-3 descritos en la presente bloquean las interacciones de Tim-3 humana con fosfatidilserina ($C_{13}H_{24}NO_{10}P$) y galectina-9 (SEQ ID NO: 15), pero no las interacciones Tim-3 humana con CEACAM1 (SEQ ID NO: 14), y se pueden combinar con un anticuerpo anti-PD-1 humana para tratar el cáncer.

Si bien los anticuerpos dirigidos a PD-1 (SEQ ID NO: 34) para la inmunoterapia contra el cáncer han demostrado ser eficaces para algunos tipos de cáncer, algunos tipos de cáncer se vuelven menos sensibles al tratamiento con PD-1 con el tiempo o no responden en absoluto. En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-Tim-3 humana que puede administrarse a pacientes que han progresado o están progresando con el tratamiento con anticuerpos anti-PD-1 humana. En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-Tim-3 humana que puede administrarse en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 humana a pacientes que no han recibido previamente tratamiento con anticuerpos anti-PD-1 humana.

La presente invención incluye anticuerpos anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) que

comprenden HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 que consisten en las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 2, 3, 4, 5, 6 y 7, respectivamente; una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; y/o una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 para la combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana.

Los ejemplos no limitativos de anticuerpos anti-PD-1 humana conocidos incluyen PDR001 (descrito en US20150210769; registro CAS N.º 1859072-53-9), MEDI0680, REGN2810, BGB-A317, nivolumab (registro CAS N.º 946414-94-4; en donde el nivolumab comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31), y pembrolizumab (registro CAS N.º 137-4853-91-4; en donde el pembrolizumab comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33). Además, dichos anticuerpos anti-PD-1 humana conocidos se pueden expresar en una variedad de líneas celulares y producir a través de diversos procesos de elaboración y pueden mostrar algunas diferencias como resultado.

Los ejemplos no limitativos de otros anticuerpos anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34) incluyen anticuerpos anti-PD-1 humana que comprenden al menos una de las siguientes: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de

la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite

una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID

NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana

(SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma, cáncer pulmonar, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer pulmonar. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o

secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer de pulmón es cáncer pulmonar de células no pequeñas. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de cabeza y cuello. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer colorrectal. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de páncreas. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer gástrico. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de riñón. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de vejiga. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de próstata. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de mama. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de ovario. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de esófago. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea,

separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es sarcoma de tejidos blandos. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de hígado.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos.

Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que

tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; en donde el anticuerpo

anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la

cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana

que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma, cáncer pulmonar, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma. Una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer pulmonar. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer de pulmón es cáncer de pulmonar de células no pequeñas. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de cabeza y cuello. Un anticuerpo anti-Tim-3

humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer colorrectal. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de páncreas. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer gástrico. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de riñón. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de vejiga. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de próstata. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de mama. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana

(SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de ovario. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de esófago. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es sarcoma de tejidos blandos. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de hígado.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID

NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID

NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena

liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena

liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma, cáncer pulmonar, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en

donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer pulmonar. 1. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es melanoma. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer de pulmón es cáncer pulmonar de células no pequeñas. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de cabeza y cuello. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer colorrectal. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de páncreas. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana

(SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer gástrico. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de riñón. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de vejiga. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de próstata. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de mama. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de ovario. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en

donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de esófago. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es sarcoma de tejidos blandos. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; y en donde el cáncer es cáncer de hígado.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos.

El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), opcionalmente, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena

liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante y/o uno o más agentes quimioterapéuticos.

Un kit para el tratamiento del cáncer, en donde el kit comprende una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención y una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34). Un kit para el tratamiento del cáncer, en donde el kit comprende una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) de la presente invención y una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el cáncer es melanoma, cáncer pulmonar, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado.

Un kit para el tratamiento del cáncer, en donde el kit comprende una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) y una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.

Un kit para el tratamiento del cáncer, en donde el kit comprende una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) y una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

Un kit para el tratamiento del cáncer, en donde el kit comprende una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) y una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de

la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un kit para el tratamiento del cáncer, en donde el kit comprende una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) y una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un kit para el tratamiento del cáncer, en donde el kit comprende una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) y una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana bloquea la fijación de Tim-3 humana a la fosfatidilserina humana, pero no bloquea la fijación de Tim-3 humana a CEACAM1 humana (SEQ ID: 14). Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el

tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana bloquea la fijación de Tim-3 humana a la fosfatidilserina humana, pero no bloquea la fijación de Tim-3 humana a CEACAM1 humana (SEQ ID: 14); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana también bloquea la fijación de Tim-3 humana a galectina-9 humana (SEQ ID: 15).

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana bloquea la fijación de Tim-3 humana a la fosfatidilserina humana, pero no bloquea la fijación de Tim-3 humana a CEACAM1 humana (SEQ ID: 14); en donde el cáncer es melanoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana bloquea la fijación de Tim-3 humana a la fosfatidilserina humana, pero no bloquea la fijación de Tim-3 humana a CEACAM1 humana (SEQ ID: 14); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana también bloquea la fijación de Tim-3 humana a galectina-9 humana (SEQ ID: 15); en donde el cáncer es melanoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana bloquea la fijación de Tim-3 humana a la fosfatidilserina humana, pero no bloquea la fijación de Tim-3 humana a CEACAM1 humana (SEQ ID: 14); en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana bloquea la fijación de Tim-3 humana a la fosfatidilserina humana, pero no bloquea la fijación de Tim-3 humana a CEACAM1 humana (SEQ ID: 14); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana también bloquea la fijación de Tim-3 humana a galectina-9 humana (SEQ ID: 15); en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento

contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana bloquea la fijación de Tim-3 humana a la fosfatidilserina humana, pero no bloquea la fijación de Tim-3 humana a CEACAM1 humana (SEQ ID: 14); en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana bloquea la fijación de Tim-3 humana a la fosfatidilserina humana, pero no bloquea la fijación de Tim-3 humana a CEACAM1 humana (SEQ ID: 14); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana también bloquea la fijación de Tim-3 humana a galectina-9 (SEQ ID: 15); en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana entra en contacto con al menos un residuo de aminoácido de los siguientes en Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1): 50, 55, 62-65 (inclusive), 72, 111 y 113-118 (inclusive). Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana

(SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana entra en contacto con al menos un residuo de aminoácido de los siguientes en Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1): 50, 55, 62-65 (inclusive), 72, 111 y 113-118 (inclusive); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana entra en contacto con: al menos dos de los residuos; preferentemente, al menos tres de los residuos; con mayor preferencia, al menos cuatro de los residuos; con mayor preferencia, al menos cinco de los residuos; con mayor preferencia, al menos seis de los residuos; con mayor preferencia, al menos siete de los residuos; con mayor preferencia, al menos ocho de los residuos; con mayor preferencia, al menos nueve de los residuos; con mayor preferencia, al menos diez de los residuos; con mayor preferencia, al menos once de los residuos; con mayor preferencia, al menos doce de los residuos; con mayor preferencia, al menos trece de los residuos; o, con mayor preferencia, todos los residuos. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana entra en contacto con al menos un residuo de aminoácido de los siguientes en Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1): 50, 55, 62-65 (inclusive), 72, 111 y 113-118 (inclusive); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana entra en contacto con: al menos dos de los residuos; preferentemente, al menos tres de los residuos; con mayor preferencia, al menos cuatro de los residuos; con mayor preferencia, al menos cinco de los residuos; con mayor preferencia, al menos seis de los residuos; con mayor preferencia, al menos siete de los residuos; con mayor preferencia, al menos ocho de los residuos; con mayor preferencia, al menos nueve de los residuos; con mayor preferencia, al menos diez de los residuos; con mayor preferencia, al menos once de los residuos; con mayor preferencia, al menos doce de los residuos; con mayor preferencia, al menos trece de los residuos; o, con mayor preferencia, todos los residuos; en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana además entra en contacto con al menos un residuo de los siguientes: 56-61 (inclusive), 107, 119-120 (inclusive) y 122. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana entra en contacto con al menos un residuo de aminoácido de los siguientes en Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1): 50, 55, 62-65 (inclusive), 72, 111 y 113-118 (inclusive); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana entra en contacto con: al menos dos de los residuos; preferentemente, al menos tres de los residuos; con mayor preferencia, al menos cuatro de los residuos; con mayor preferencia, al menos cinco de los residuos; con mayor preferencia, al menos seis de los residuos; con mayor preferencia, al menos siete de los residuos; con mayor preferencia, al menos ocho de los residuos; con mayor preferencia, al menos nueve de los residuos; con mayor preferencia, al menos diez de los residuos; con mayor preferencia, al menos

once de los residuos; con mayor preferencia, al menos doce de los residuos; con mayor preferencia, al menos trece de los residuos; o, con mayor preferencia, todos los residuos; en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana además entra en contacto con al menos un residuo de los siguientes: 56-61 (inclusive), 107, 119-120 (inclusive) y 122; en donde los residuos que están en contacto son (6) angstroms o menos del anticuerpo anti-Tim-3 humana, según se determinó mediante cristalografía de rayos X.

Una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), para el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11. Una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), para el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana es PDR001, REGN2810, MEDI0680, BGB-A317, nivolumab o pembrolizumab. Una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), para el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11. Una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), para el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende: (a) HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21; (b) una región

variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23; (c) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; o (d) una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Una primera composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con una segunda composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11; en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

Los anticuerpos de la presente invención son complejos de polipéptidos no naturales modificados por ingeniería genética. Una molécula de ADN de la presente invención es una molécula de ADN no natural que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica un polipéptido que tiene la secuencia de aminoácidos de uno de los polipéptidos en un anticuerpo de la presente invención.

Los anticuerpos de la presente invención son un anticuerpo de tipo IgG y tienen cadenas "pesadas" y cadenas "livianas" que están reticuladas a través de puentes disulfuro intracatenarios e intercatenarios. Cada cadena pesada está compuesta por una HCVR de terminal N y una región constante de la cadena pesada ("HCCR"). Cada cadena liviana está compuesta por una LCVR y una región constante de la cadena liviana ("LCCR"). Cuando se expresan en ciertos sistemas biológicos, los anticuerpos que tienen secuencias Fc humanas nativas se glicosilan en la región Fc. Típicamente, la glicosilación se produce en la región Fc del anticuerpo en un sitio de N-glicosilación altamente conservado. Normalmente, los N-glicanos se fijan a la asparagina. Los

anticuerpos también pueden estar glicosilados en otras posiciones.

Opcionalmente, ciertos anticuerpos anti-Tim-3 descritos en la presente contienen una porción Fc que deriva de la IgG1 humana. Se sabe que la IgG1 se fija a las proteínas de la familia de receptores Fc-gamma (FcγR) así como a C1q. La interacción con estos receptores puede inducir la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Por lo tanto, opcionalmente, ciertos anticuerpos anti-Tim-3 descritos en la presente son un anticuerpo monoclonal completamente humano que carece de función efectora de Fc (IgG1, Fc-nulo). Para lograr un anticuerpo IgG1 Fc-nulo, es necesaria la mutagénesis selectiva de residuos dentro de la región CH2 de su región Fc de IgG1. Las sustituciones de aminoácidos L234A, L235E y G237A se introducen en Fc de IgG1 para reducir la fijación a FcγRI, FcγRIIa y FcγRIII, y las sustituciones A330S y P331S se introducen para reducir la fijación al complemento mediada por C1q. Para reducir la potencial inducción de una respuesta inmunitaria cuando se dosifican en seres humanos, ciertos aminoácidos pueden requerir retromutaciones para coincidir con las secuencias de la línea germinal del anticuerpo.

Opcionalmente, los anticuerpos anti-PD-1 humana de la presente invención pueden contener una porción Fc que deriva de la región Fc de IgG₄ humana debido a una capacidad reducida para acoplar los mecanismos inflamatorios mediados por el receptor Fc o para activar el complemento que resulta en una función efectora reducida. Ciertos anticuerpos anti-PD-1 humana de la presente invención contienen una porción Fc de IgG₄ que tiene una mutación de serina a prolina en la posición 228. Además, ciertos anticuerpos anti-PD-1 humana de la presente invención contienen una porción Fc de IgG₄-PAA. La porción Fc de IgG₄-PAA tiene una mutación de serina a prolina en la posición 228, una mutación de fenilalanina a alanina en la posición 234 y una mutación de leucina a alanina en la posición 235. La mutación S228P es una mutación de bisagra que evita la formación de medio anticuerpo (fenómeno de intercambio dinámico de medias moléculas en anticuerpos IgG₄). Las mutaciones F234A y L235A disminuyen adicionalmente la función efectora del ya bajo isotipo IgG₄ humano. Además, ciertos anticuerpos anti-PD-1 humana de la presente invención contienen una porción Fc de IgG₄-PAA con la lisina del terminal C eliminada (des-Lys) de la cadena pesada.

Las regiones HCVR y LCVR también se pueden subdividir en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones más conservadas, denominadas regiones de marco ("FR"). Cada HCVR y LCVR está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el terminal amino hasta el terminal carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En la presente, las tres CDR de la cadena pesada se denominan "HCDR1, HCDR2 y HCDR3", y las tres CDR de la cadena liviana se denominan "LCDR1, LCDR2 y LCDR3". Las CDR contienen la mayoría de los

residuos que forman interacciones específicas con el antígeno. Actualmente existen tres sistemas de asignaciones de CDR para anticuerpos que se utilizan para la delineación de secuencias. La definición de CDR de North (North *et al.*, "A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations", *Journal of Molecular Biology*, 406, 228-256 (2011)) se basa en el agrupamiento de propagación por afinidad con un gran número de estructuras cristalinas. Para los fines de la presente invención, se usan las definiciones de CDR de North.

Un ADN aislado que codifica una región HCVR se puede convertir en un gen de la cadena pesada de longitud completa al ligar operativamente el ADN que codifica la HCVR a otra molécula de ADN que codifica regiones constantes de la cadena pesada. Las secuencias de los genes de la región constante de la cadena pesada humana, así como de otros mamíferos, se conocen en la técnica. Los fragmentos de ADN que comprenden estas regiones se pueden obtener, por ejemplo, mediante amplificación por PCR estándar.

Un ADN aislado que codifica una región LCVR se puede convertir en un gen de la cadena liviana de longitud completa al ligar operativamente el ADN que codifica la LCVR a otra molécula de ADN que codifica una región constante de la cadena liviana. Las secuencias de los genes de la región constante de la cadena liviana humana, así como de otros mamíferos, se conocen en la técnica. Los fragmentos de ADN que comprenden estas regiones se pueden obtener mediante amplificación por PCR estándar. La región constante de la cadena liviana puede ser una región constante kappa o lambda humana. Preferentemente, para los anticuerpos anti-Tim-3 humana de la presente invención, la región constante de la cadena liviana es una región constante kappa humana.

Los polinucleótidos de la presente invención se expresarán en una célula huésped después de que las secuencias se hayan ligado operativamente a una secuencia de control de la expresión. Los vectores de expresión son típicamente replicables en los organismos huésped ya sea como episomas o como una parte integral del ADN cromosómico huésped. Comúnmente, los vectores de expresión contendrán marcadores de selección, por ejemplo, tetraciclina, neomicina y dihidrofolato reductasa, para permitir la detección de aquellas células transformadas con las secuencias de ADN deseadas.

Los anticuerpos de la presente invención pueden producirse fácilmente en células de mamíferos, cuyos ejemplos no limitativos incluyen células CHO, NS0, HEK293 o COS. Las células huésped se cultivan mediante técnicas conocidas en la técnica.

Los vectores que contienen las secuencias de polinucleótidos de interés (por ejemplo, los polinucleótidos que codifican los polipéptidos del anticuerpo y las secuencias de control de la expresión) pueden transferirse a la célula huésped mediante métodos conocidos, que varían según el tipo de huésped celular.

Se pueden emplear diversos métodos de purificación de proteínas, y tales métodos se conocen en la técnica y se describen, por ejemplo, en Deutscher, *Methods in Enzymology* 182: 83-89 (1990) y Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, 3ra edición, Springer, NY (1994).

En otras formas de realización de la presente invención, el anticuerpo, o los ácidos nucleicos que lo codifican, se proporciona en forma aislada. Como se usa en la presente, el término "aislado" se refiere a una proteína, péptido o ácido nucleico que está libre o sustancialmente libre de cualquier otra especie macromolecular que se encuentra en un entorno celular. Como se usa en la presente, "sustancialmente libre" significa que la proteína, péptido o ácido nucleico de interés comprende más del 80 % (en una base molar) de las especies macromoleculares presentes, preferentemente, más del 90 % y, con mayor preferencia, más del 95 %.

Los anticuerpos de la presente invención, o las composiciones farmacéuticas que los comprenden, se pueden administrar por vías parenterales (por ejemplo, subcutánea e intravenosa). Los anticuerpos de la presente invención se pueden administrar a un paciente junto con portadores, diluyentes o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico en dosis única o múltiples. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden preparar mediante métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 22da edición (2012), A. Loyd *et al.*, Pharmaceutical Press) y comprenden un anticuerpo, como se describe en la presente, y uno o más portadores, diluyentes o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

Los regímenes de dosis se pueden ajustar para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, un efecto terapéutico). Las dosis de tratamiento pueden titularse para optimizar la seguridad y la eficacia. Los cronogramas de dosificación, para la administración intravenosa (i.v.) o no intravenosa, localizada o sistémica, o combinaciones de estas, variarán típicamente de una única dosis de bolo o infusión continua a múltiples administraciones por día (por ejemplo, cada 4-6 horas), o según lo indicado por el médico tratante y la afección del paciente.

El término "que trata" (o "tratar" o "tratamiento") se refiere a ralentizar, interrumpir, detener, aliviar, paralizar, reducir o revertir la progresión o la gravedad de un síntoma, trastorno, afección o enfermedad existente.

"Cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un anticuerpo de la presente invención o composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de la presente invención que provocará la respuesta médica o biológica de o el efecto terapéutico deseado en un tejido, sistema, animal, mamífero o humano que está siendo buscado por el investigador, médico u otro profesional de la salud. Una cantidad eficaz del anticuerpo puede variar de acuerdo con diversos factores, tales

como el estado patológico, la edad, el género y el peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad eficaz es también una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del anticuerpo es superado por los efectos beneficiosos desde el punto de vista terapéutico.

Generación, expresión y purificación de anticuerpos

Los anticuerpos de la presente invención pueden generarse mediante métodos conocidos que incluyen, entre otros, el uso de la expresión de fagos, animales transgénicos y/o humanización. Para la generación de anticuerpos anti-Tim-3 humana, la proteína Tim-3 humana se puede tratar previamente con la enzima PNGasaF antes de su uso. Además, los anticuerpos derivados como se describe anteriormente se pueden cribar adicionalmente utilizando los ensayos descritos en la presente.

Los polipéptidos de las regiones variables de la cadena pesada y la cadena liviana, las secuencias completas de aminoácidos de la cadena pesada y la cadena liviana para los Anticuerpos A, D y E y las secuencias de nucleótidos que las codifican se enumeran en la sección titulada “Secuencias de aminoácidos y nucleótidos”. Además, las SEQ ID NO para la cadena liviana, la cadena pesada, la región variable de la cadena liviana y la región variable de la cadena pesada de los Anticuerpos A, D y E se muestran en la Tabla 1 a continuación.

Los anticuerpos de la presente invención, que incluyen, entre otros, los Anticuerpos A, D, y E, pueden prepararse y purificarse esencialmente de la siguiente manera. Una célula huésped apropiada, tal como HEK 293 o CHO, se puede transfectar de forma transitoria o estable con un sistema de expresión para segregar anticuerpos usando una relación de vector HC:LC predeterminada óptima o un sistema de vector único que codifica tanto HC (cadena pesada) y LC (cadena liviana). Los medios clarificados, en los que se ha segregado el anticuerpo, se pueden purificar con cualquiera de las varias técnicas de uso común. Por ejemplo, el medio se puede aplicar convenientemente a una columna MabSelect (GE Healthcare) o una columna KappaSelect (GE Healthcare) para el fragmento Fab, que se ha equilibrado con un amortiguador compatible, tal como una solución salina amortiguada con fosfato (pH 7,4). La columna se puede lavar para eliminar los componentes de fijación no específicos. El anticuerpo fijado se puede eluir, por ejemplo, mediante un gradiente de pH (tal como 20 mM de amortiguador Tris, pH 7, a 10 mM de amortiguador de citrato de sodio, pH 3,0, o solución salina amortiguada con fosfato, pH 7,4, a 100 mM de amortiguador de glicina, pH 3,0). Se pueden detectar fracciones de anticuerpos, tal como por absorbancia UV o SDS-PAGE, y luego se pueden agrupar. La purificación adicional es opcional, dependiendo del uso previsto. El anticuerpo puede concentrarse y/o esterilizarse por filtración mediante el uso de técnicas comunes. El agregado soluble y los multímeros pueden eliminarse de manera efectiva mediante técnicas comunes, incluida la exclusión por tamaño, la

interacción hidrófoba, el intercambio iónico, multimodal o la cromatografía con hidroxiapatita. La pureza del anticuerpo después de estas etapas de cromatografía es por lo general mayor del 95 %. El producto puede congelarse inmediatamente a -70 °C, o puede liofilizarse.

Tabla 1

SEQ ID correspondiente	Anticuerpo A (anticuerpo anti-Tim-3)	Anticuerpo D (anticuerpo anti-PD-1 - S228P IgG4)	Anticuerpo E (anticuerpo anti-PD-1 - des-Lys de PAA IgG4)
HCDR1	2	16	16
HCDR2	3	17	17
HCDR3	4	18	18
LCDR1	5	19	19
LCDR2	6	20	20
LCDR3	7	21	21
HCVR	8	22	22
LCVR	9	23	23
Cadena pesada	10	24	25
Cadena liviana	11	26	26
Cadena pesada del ADN	12	27	28
Cadena liviana del ADN	13	29	29

Ensayo de WINN

Los anticuerpos de la presente invención se pueden analizar para determinar la actividad inmunomoduladora *in vivo* con el ensayo de WINN. En el ensayo de WINN, las células tumorales de NSCLC NCI-H292 humanas y las células inmunitarias humanas (alogénicas) se mezclan y se coimplantan en un ratón inmunodeficiente, y luego se dosifican con un agente inmunomodulador. La capacidad del agente inmunomodulador para inhibir o retrasar la formación tumoral o para respaldar la persistencia intratumoral se puede evaluar de la siguiente manera.

El día 0, se implantaron ratones NSG de Jackson Laboratories (7 semanas de vida, hembras, en grupos de 8-10 ratones) en el flanco por vía subcutánea con 2×10^6 células H292, o una mezcla de 2×10^6 células H292 y 1×10^6 células PBMC humanas en HBSS (0,2 ml de volumen total). A partir del día 0, los ratones se tratan con una inyección i.p. de IgG humana de control a 10 mg/kg o con el Anticuerpo A a 1 mg/kg o 10 mg/kg, una vez por semana durante seis semanas. El bienestar y el comportamiento de los animales, incluidos el aseo y la ambulación, se controlan al menos dos veces por semana.

Las secciones tumorales del modelo se pueden analizar para detectar la persistencia de linfocitos T CD3 positivos y CD8 positivos al medir la presencia de linfocitos T CD3 positivos y CD8 positivos mediante la tinción de CD3 y CD8 y el análisis con Aperio ScanScope™. La macro del análisis de IHC de imágenes nucleares detecta la tinción nuclear de un cromógeno diana para las células individuales en aquellas regiones que son seleccionadas por el usuario y cuantifica sus intensidades. Se hacen de tres a cinco anotaciones a partir del área tumoral viable y se usan para ajustar los parámetros hasta que los resultados del algoritmo generen una identificación celular consistente. La macro se guarda y los portaobjetos se registran para su análisis. El software Aperio calcula el % de linfocitos CD3 positivos y CD8 positivos como un porcentaje del número total de células.

En experimentos realizados esencialmente como se describe en este ensayo de WINN, mediante el análisis de IHC, los ratones coimplantados con tumores NCI-H292 y PBMC y a los que se les administró el Anticuerpo A a 10 mg/kg dieron como resultado un aumento significativo (30 %) de linfocitos T intratumorales CD3 positivos y CD8 positivos humanos en comparación con ratones coimplantados con tumores NCI-H292 y PBMC y tratados con la IgG de control (6,5 %) ($P = 0,03$).

Modelo de xenoinjerto tumoral humano establecido en ratones NSG humanizados con linfocitos T humanos primarios

La eficacia de los anticuerpos de la presente invención se puede evaluar en el modelo de xenoinjerto de NSCLC (cáncer de pulmón de células no pequeñas) humano NCI-HCC827 para evaluar la capacidad de retrasar o destruir los tumores establecidos en el modelo. El día 0, 1×10^7 células NCI-HCC827 se implantan por vía subcutánea en el flanco de ratones NSG (7 semanas de vida, hembras, 8 ratones por grupo). Cuando los tumores alcanzan un volumen de $\sim 400 \text{ mm}^3$ ($\sim$ días 30-32), los ratones se infunden (i.v.) con $2,5 \times 10^6$ linfocitos T humanos previamente expandidos. Los linfocitos T humanos previamente expandidos se generan al aislar los linfocitos T humanos de la sangre y expandirlos mediante activador de linfocitos T humanos CD3/CD28 Dynabeads® durante 10 días. Los linfocitos T humanos previamente expandidos se pueden criopreservar para su posterior uso. El día después de la infusión de linfocitos T, a los ratones se les administra IgG humana o el Anticuerpo A a 10 mg/kg por semana (4 dosis totales) por inyección i.p. El bienestar y el comportamiento de los animales, incluidos el aseo y la ambulación, se controlan al menos dos veces por semana.

El peso corporal y el volumen tumoral se miden dos veces por semana. Los volúmenes tumorales se midieron dos veces por semana a partir del día 4 posterior a la implantación celular utilizando calibres electrónicos como se describió anteriormente. Volumen tumoral (mm^3) = $\pi/6 \times \text{Longitud} \times \text{Ancho}^2$. La eficacia antitumoral se expresa como la relación T/C en porcentaje y se calcula como se resume a continuación: el % de T/C se calcula con la fórmula $100 \Delta T / \Delta C$ si $\Delta T > 0$ de los valores de la media geométrica. ΔT = media del volumen tumoral del grupo tratado con el fármaco en el último día del estudio - media del volumen tumoral del grupo tratado con el fármaco el primer día de la dosificación; ΔC = media del volumen tumoral del grupo de control en el último día del estudio - media del volumen tumoral del grupo de control en el primer día de la dosificación. Además, el % de regresión se calcula con la fórmula = $100 \times \Delta T / T_{\text{inicial}}$ si $\Delta T < 0$. Los animales sin tumores medibles se consideran respondedores completos (CR) y los tumores con regresiones $>50\%$ son respondedores parciales (RP).

En experimentos realizados esencialmente como se describe anteriormente, el tratamiento con el Anticuerpo A (anti-Tim-3 humana) inhibe significativamente el crecimiento tumoral en los ratones NSG humanizados, en comparación con el tratamiento con IgG humana (Tabla 2). El día 76, el tratamiento con el Anticuerpo A da como resultado una T/C = 2 %. El día 110, el tratamiento con el Anticuerpo A dio como resultado 3/8 CR.

Tabla 2: volumen tumoral (mm^3) en el modelo de xenoinjerto de NSCLC humano NCI-HCC827

	Control de IgG Humana	Anticuerpo A
--	-----------------------	--------------

Día	Media	SEM	Media	SEM
21	152	13	164	85
28	289	24	309	160
30	332	28	358	186
34	388	32	403	209
36	414	34	505	262
40	706	59	628	326
43	752	62	733	380
47	858	71	763	396
50	932	77	747	387
55	982	81	807	418
57	1212	100	843	437
62	1324	110	553	287
65	1524	126	726	376
69	1492	124	602	312
72	1827	151	539	279
76	2030	168	375	196
79			375	196
83			414	218
85			331	175
90			192	103
93			235	128
97			173	95
100			118	65
103			125	69
106			120	67
110			131	73

Ensayo de L55

Los anticuerpos de la presente invención se pueden analizar para determinar la actividad inmunomoduladora *in vivo* con el ensayo de L55. En este sentido, la eficacia del Anticuerpo A y de la combinación del Anticuerpo A y el anticuerpo anti-PD-1, el Anticuerpo D, para mejorar las respuestas de los linfocitos T a aloantígenos se puede evaluar por medio del modelo de xenoinjerto establecido de L55 (cáncer de pulmón de células no pequeñas). Las células L55 se cultivan en medios RPMI-1640 con suero bovino fetal al 10 % y 1 mM de piruvato de Na⁺ y L-glutamina. El día 0, se implantaron ratones NSG de Jackson Laboratories (7 semanas de vida, hembras, en grupos de 8 ratones) en el flanco por vía subcutánea con 5 x 10⁶ células de NSCLC humano L55 en HBSS (0,2 ml de volumen total). Cuando los tumores alcanzan ~200-300 mm

(~día 21-25), los ratones se aleatorizan. Se aíslan células PBMC humanas de la sangre y se infunden por vía intravenosa (8×10^6 PBMC en 0,2 ml de PBS por ratón) en ratones con tumores L55 el día 28. El mismo día, se trató a los ratones con una inyección intraperitoneal de IgG humana o el Anticuerpo A a 10 mg/kg, una vez por semana durante cuatro semanas en total (administrada el d28, d35, d42, d48). El tratamiento con el Anticuerpo D a 10 mg/kg comienza el día 31 y se administra una vez a la semana durante tres semanas más (administrado el d31, d38, d45, d48). El bienestar y el comportamiento de los animales, incluidos el aseo y la ambulación, se controlan al menos dos veces por semana. El peso corporal y el volumen tumoral se miden dos veces por semana. Los volúmenes tumorales se miden dos veces por semana a partir del día 4, posterior a la implantación celular con calibres electrónicos. El volumen tumoral se calcula con la fórmula: volumen tumoral (mm^3) = $\pi/6 \times \text{Longitud} \times \text{Ancho}^2$.

En experimentos realizados esencialmente como se describe en este ensayo, el tratamiento conjunto con el Anticuerpo A (anti-Tim-3 humana) y el Anticuerpo D (anti-PD-1 humana) retrasan significativamente el crecimiento tumoral en los ratones NSG humanizados, en comparación con el tratamiento con el Anticuerpo A o el Anticuerpo D solo (Tabla 3).

Tabla 3

	Control de IgG Humana		Anticuerpo A		Anticuerpo D		Anticuerpo A + Anticuerpo D	
Día	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM
16	113,7	3,6	109	5,5	110,7	4,6	103,9	6,3
24	251,6	19,7	236,9	12,1	238,9	17,5	228	21,9
28	364,0	27,7	344,1	17,6	342,6	25,1	358,5	34,4
31	483,7	36,9	441,7	22,6	457,3	33,5	447	42,8
35	480,0	36,6	491,9	25,2	538,6	39,6	388,7	37,3
38	545,7	41,6	582,6	29,8	655,3	48,1	492,3	47,2
42	657,8	50,2	651,2	33,3	607,5	44,5	391,5	37,5
44	916,0	69,8	756,6	38,7	896,9	65,8	520,4	49,9
48	1027,5	78,3	766,8	39,3	772,6	56,7	599,6	57,5
50	1173,0	89,4	911	46,6	943,8	69,2	720,3	69
55	1298,1	98,9	1170,6	59,9	1125,8	82,6	816,6	78,3
58			1839,9	94,2	1530,7	112,2	931,0	89,2
62							1019,5	97,7
65							1147,7	110
69							1272,5	122

Reacción de linfocitos mixtos modificados

La función de bloquear las señales de Tim-3 por parte de los anticuerpos de la presente invención se puede evaluar al medir la liberación de citocinas en la activación de linfocitos T. Se espera un aumento de los niveles de ciertas citocinas, tales como IFN- γ , si la activación de linfocitos T se promueve con el tratamiento con anticuerpos de la presente invención.

Los monocitos CD14⁺ se aíslan por medio de la selección negativa a partir de PBMC humanas frescas obtenidas de un donante sano (AllCells) con el kit II de aislamiento de monocitos

humanos (Miltenyi Biotec). Las células dendríticas derivadas de monocitos humanos se generan al cultivar los monocitos CD14⁺ en un medio RPMI-1640 completo en presencia de 62,5 ng/ml de hGM-CSF y 20 ng/ml de IL-4 humana durante 3 días. Se aislaron PBMC humanas frescas de diferentes donantes sanos (AllCells). Los dos tipos de células se mezclan a continuación en cavidades individuales de una placa de 96 cavidades con 100 µl de medio AIM-V completo que contiene 7,5x10⁴ células PBMC y 1,5x10⁴ DC inmaduras por cavidad. Se agregan 100 µl de medio AIM-V completo que contiene 100 nM de IgG1 humana, 100 nM del Anticuerpo A, 0,64 nM o 0,32 nM de nivolumab, 100 nM del Anticuerpo A y 0,64 o 0,32 nM de nivolumab en combinación en 8 réplicas. Después de la incubación durante 6 días a 37 °C en CO₂ al 5 %, los sobrenadantes se recolectan y se miden para detectar IFN-γ humano con un kit ELISA (R&D Systems). Se usa una prueba t desapareada para comparar los grupos.

En experimentos realizados esencialmente como se describe anteriormente, la adición del Anticuerpo A o nivolumab aumenta la secreción de IFN-γ en comparación con la adición de IgG1 humana. La combinación del Anticuerpo A con nivolumab aumenta significativamente la secreción de IFN-γ en comparación con la adición de nivolumab solo en una dosis de 0,32 nM ($P = 0,0013$), como se ilustra en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4

	IgG de control (100 nM)			Anticuerpo A (100 nM)		
Nivolumab	0 nM	0,32 nM	0,64 nM	0 nM	0,32 nM	0,64 nM
IFN-gamma (pg/ml)	157,554±79,3	180,326±37,3	232,656±58,7	201,419±120,7	310,846±66,1	369,109±179,4

Análisis de ELISA: el Anticuerpo A se fija a Tim-3 recombinante

La capacidad de los anticuerpos de la presente invención para fijarse a Tim-3 humana se puede medir con un ensayo de ELISA. Para el ensayo de fijación a Tim-3, se recubre una placa de 96 cavidades (Nunc) con Tim-3-Fc humano (R&D Systems) durante la noche a 4 °C. Las cavidades se bloquean durante 2 h con amortiguador de bloqueo (PBS que contiene albúmina de suero bovino al 3 %). Las cavidades se lavan tres veces con PBS que contiene Tween-20 al 0,1 %. Luego, se agrega el Anticuerpo A o la IgG de control (100 µL) y se incuba a temperatura ambiente durante 1 h. Después del lavado, la placa se incuba con 100 µl de conjugado F(ab')₂-HRP anti-IgG humana en cabra (Jackson Immuno Research) a temperatura ambiente durante 1 h. Las placas se lavan y luego se incuban con 100 µl de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina. La absorbancia a 450 nm se lee en un lector de microplacas. La concentración efectiva máxima media (EC₅₀) se calcula con el software GraphPad Prism 6.

En experimentos realizados esencialmente como se describe anteriormente, el Anticuerpo A se fija a Tim-3 humana con una EC₅₀ de $2,07 \times 10^{-11}$ M.

Análisis de citometría de flujo: el Anticuerpo A se fija a la superficie celular de Tim-3

La capacidad de los anticuerpos de la presente invención de fijarse a la superficie celular de Tim-3 humana se puede medir con un ensayo de citometría de flujo. Para este ensayo se usan células Tim-3 DO11.10, una línea celular DO11.10 que expresa Tim-3 humana.

Las células Tim-3 DO11.10 se pueden obtener de la siguiente manera. El gen Tim-3 de longitud completa se puede adquirir a través de Origene Technologies, Inc. y clonar en un vector de lentivirus pLVX-IRES-Neo de Clontech Laboratories, Inc. mediante PCR. El sistema Lenti-X™ de Clontech Laboratories, Inc. se usa para generar títulos altos de viriones recombinantes incompetentes para la replicación. Los viriones se usan para infectar las células diana inmediatamente o para dividir las en alícuotas y congelarlas a -80 hasta su uso. El hibridoma de linfocitos T murinos, la línea celular DO11.10, se puede obtener a través de National Jewish Health®. Las células DO11.10 se cultivan y se mantienen de acuerdo con un protocolo que acompaña esta línea celular. El día 0, las células DO11.10 se cuentan y se centrifugan para eliminar los medios de cultivo. Los pélets celulares se mezclan con viriones que contienen el gen TIM-3 humano o el control del vector y se incuban a 37 °C durante 24 horas. El polibreno se agrega al mezclar las células y los viriones hasta lograr una concentración final de 8 µg/ml. Después de 24 horas, las células DO11.10 se vuelven a convertir en pélets y suspender en medios de cultivo frescos y se incuban a 37 °C durante 3 días. A continuación, las células DO11.10 se convierten en pélets cada 3 días y se vuelven a suspender en medios de selección que contienen 1 mg/ml de Geneticin® para seleccionar células transducidas de manera estable. La expresión de Tim-3 se monitorea mediante citometría de flujo con anticuerpos obtenidos a

través de R&D Systems. Después de 2 a 3 semanas en medios de selección, las células de DO11.10 que expresan Tim-3 resultantes se clasifican para establecer un clon de una sola célula.

Se agregaron células DO11.10 y Tim-3 DO11.10 a una placa con fondo en forma de V de 96 cavidades a 1×10^5 células por cavidad (100 μ L/cavidad) en un amortiguador de tinción (DPBS que contiene BSA al 3 %). Las células se bloquean con Fc en hielo durante 1 hora en un amortiguador de tinción con 30 μ g/ml de IgG humana. El Anticuerpo A o la IgG humana de control se etiqueta con A488 (Molecular Probes®), y se preparan titulaciones de 12 puntos (diluciones en serie 1:3) de ambos anticuerpos en un amortiguador de tinción con una concentración inicial de 66,7 nM. Los anticuerpos etiquetados se agregan a las células y se incuban durante 1 hora a 4 °C en la oscuridad. Las células se lavan dos veces con PBS mediante rotación durante 5 minutos a 1200 RPM y decantación del sobrenadante. Se agrega colorante de células vivas/muertas 7-AAD (1:1000 en PBS) a cada cavidad a 3 μ L/cavidad y las células se incuban durante 15 minutos en hielo. Las células se lavan dos veces con PBS y se vuelven a suspender en 100 μ l de DPBS que contiene BSA al 0,5 % y se analizan en Intellicyte iQue. Todas las tinciones se realizan por triplicado. Los datos se analizan con el software FlowJo para identificar poblaciones de células vivas y determinar la mediana de intensidad de fluorescencia de cada muestra mediante el canal de detección AF488 (FL1). Los valores de MFI individuales (es decir, la media de intensidad de fluorescencia) se colocan en el software GraphPad Prism para generar curvas de respuesta a la concentración a partir de las cuales se extrapolan los valores de EC50.

En experimentos realizados esencialmente como se describe anteriormente, el Anticuerpo A se fija a Tim-3 humana fijada celular en células Tim-3 DO11.10 de manera dependiente de la dosis con un valor de EC50 de 0,09 nM.

Análisis de citometría de flujo: el Anticuerpo A bloquea la interacción de la fosfatidilserina con Tim-3 humana.

La capacidad de ciertos anticuerpos de la presente invención para bloquear la fijación de la fosfatidilserina a Tim-3 se puede medir mediante el análisis de FACS. Para este ensayo de bloqueo del receptor-ligando, 1×10^6 /ml de células DO11.10 se tratan con 12 μ M de camptotecina (Sigma®) durante 3 horas a 37 °C para inducir la apoptosis. Se usa FITC-anexina V (Becton Dickinson®) como un control positivo para detectar la existencia de fosfatidilserina. El hTIM-3-Fc biotinilado se fija fuertemente a las células tratadas con camptotecina, pero no se fija a las células no tratadas. Las células tratadas con camptotecina se lavan con PBS frío y se vuelven a suspender en un amortiguador de fijación (Becton Dickinson®) a 1×10^6 células/ml. Los receptores Fc se bloquean al agregar 50 μ g/ml de IgG de ratón e IgG de rata a las células e incubarlas a temperatura ambiente por 30 min. Se prepararon titulaciones de 6 puntos (diluciones en serie 1:3) del Anticuerpo A en un amortiguador de fijación con una concentración inicial de 90 nM y se

agregaron a 1 ml de células, y luego las células se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente. La hTIM-3-Fc biotina se agrega a continuación a 0,05 µg/cavidad a las muestras apropiadas en un volumen de 200 µl y se incuba durante 30 min a temperatura ambiente. Las células se lavan luego dos veces con un amortiguador de fijación mediante centrifugación a 1200 RPM durante 5 min. Se agregan 2,4 µL/cavidad de una solución que contiene estreptavidina-FITC (Biolegend®) (dilución 1:10 en DPBS) y 5 µL/cavidad de yoduro de propidio a cada cavidad y se incuban durante 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Las células se lavan dos veces con amortiguador de fijación y se vuelven a suspender en 100 µl de PBS. Las muestras se leen en el citómetro de flujo IntelliCyt iQue y los datos se analizaron con el software FlowJo. Los valores de MFI individuales (es decir, la media de intensidad de fluorescencia) se colocan en el software GraphPad Prism para generar curvas de respuesta a la concentración a partir de las cuales se extrapolan los valores de IC50.

En experimentos realizados esencialmente como se describe anteriormente, el Anticuerpo A bloquea la interacción de Tim-3 humana con la fosfatidilserina de manera dependiente de la dosis con un valor de IC50 de 0,32 nM y como se ilustra adicionalmente en la Tabla 4.

Tabla 4

	DO11.10 + biotina hTIM-3-Fc sin tratar	DO11.10 + biotina hTIM-3-Fc tratadas con camptotecina						
Anticuerpo A (nM)	0	90	30	10	3,3	1,1	0,37	0
MFI	1747	1815	19655	32574	52885	96566	197146	214044

Ensayo de bloqueo de galectina-9: el anticuerpo A bloquea la interacción de galectina-9 humana con Tim-3 humana

La capacidad de los anticuerpos de la presente invención para bloquear la fijación de galectina-9 humana a Tim-3 humana se puede medir de la siguiente manera. Para este ensayo de bloqueo del receptor-ligando, se bloquea una placa MSD recubierta con estreptavidina de 96 cavidades (Meso Scale Diagnostics) durante 2 horas con 150 µl de amortiguador de bloqueo (PBST que contiene albúmina de suero bovino al 5 %). Las cavidades se lavan tres veces con 200 µl de PBS que contiene Tween-20 al 0,2 %. La galectina-9 humana recombinante (R&D Systems) se biotinila con biotina EZ-Link™ (Thermo Scientific™), y luego se agregan 25 µl de 0,21 µg/ml de la galectina-9-biotina recombinante humana y se incuban a temperatura ambiente durante 2 horas. Las placas se lavan tres veces con PBS que contiene Tween-20 al 0,2 %. La proteína Tim-3-Fc humana (R&D Systems) se rutinila con reactivo de éster de NHS con etiqueta sulfo (Meso Scale Discovery®) y se almacena una pequeña alícuota a -80 hasta su uso. Los anticuerpos se

diluyen en serie (a partir de 13,5 $\mu\text{g/ml}$), y se combinan 50 μl de cada anticuerpo con 50 μl de hTim-3-Fc-ruth diluido a 0,05 $\mu\text{g/ml}$ y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego se agregan 50 μl de cada combinación a la placa y se incuban durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Las placas se lavan tres veces con PBS que contiene Tween-20 al 0,2 %. Luego se agregan 150 μl de 1X amortiguador de lectura (Meso Scale Diagnostics) a cada cavidad de la placa y la placa se lee en un Sector Imager 2400 (Meso Scale Diagnostics).

En experimentos realizados esencialmente como se describe anteriormente, el Anticuerpo A bloquea la interacción de Tim-3 humana con galectina-9 humana con un valor de IC₅₀ de 5,6 nM en comparación con un anticuerpo anti-Tim-3 humana policlonal de control (R&D Systems) con un valor de IC₅₀ de 7,8 nM. Sin embargo, el anticuerpo anti-Tim-3 humana policlonal puede bloquear hasta el 100 % de las interacciones de Tim-3 humana con la galectina-9 humana, mientras que el Anticuerpo A solo logra un bloqueo parcial en este ensayo.

Ensayo de bloqueo de CEACAM-1: el anticuerpo A no bloquea la interacción de CEACAM1 humana con Tim-3 humana

La capacidad de los anticuerpos de la presente invención para bloquear la fijación de CEACAM1 humana a Tim-3 humana se puede medir de la siguiente manera. Para este ensayo de bloqueo del receptor-ligando, una placa de 96 cavidades Immulon 4HBX placa (Thermo Scientific) está recubierta con 100 μL /cavidad de 1 $\mu\text{g/ml}$ de Tim-3-Fc humano a 4 °C. La placa se lavó tres veces con PBS que contenía Tween-20 al 0,2 % y se bloqueó con 200 μL /cavidad de PBS con BSA al 3 % durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego, se elimina el amortiguador de bloqueo, y se agregan a la placa 50 μl de Ab titulados (que incluyen el anti-Tim-3 humana policlonal, R&D Systems, el Anticuerpo A e IgG humana de control) a partir de 600 nM y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego, se agregan 50 μl de 20 $\mu\text{g/ml}$ de CEACAM1 (BIOTANG) directamente a las cavidades y se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente (la concentración final de anticuerpo es 300 nM y la de CEACAM1 es 10 $\mu\text{g/ml}$). La placa se lava tres veces con PBS que contiene Tween-20 al 0,2 %, y se agregan 100 μl de 0,2 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo contra CEACAM1 humana biotinilado (R&D Systems) y luego se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente. La placa se lava tres veces con PBS que contiene Tween-20 al 0,2 %, y luego se agregan 100 μl de estreptavidina peroxidasa (Jackson ImmunoResearch Laboratories) y posteriormente se incuban durante 1 hora a temperatura ambiente. La placa se lava seis veces con PBS que contiene Tween-20 al 0,2 % y se desarrolla con 100 μL /cavidad de una solución de sustrato de TMB 1:1 A y B (KPL) durante 10 minutos a temperatura ambiente. La reacción se detuvo con 100 μL /cavidad de H₂SO₄ 0,1N y la placa se leyó en un lector de placas SpectraMax® a 450 nm.

En experimentos realizados esencialmente como se describe anteriormente, el Anticuerpo A no bloquea de manera significativa la fijación de CEACAM1 a Tim-3 humana, como se ilustra en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5

Concentración de anticuerpo (nM)	0,015	0,046	0,137	0,41	1,24	3,71	11,1	33,3	100	300
Control de IgG humana (O.D.)	2,05	2,02	2,13	2,03	2,04	2,03	2,05	2,07	2,12	2,08
Anti-Tim-3 policlonal (O.D.)	1,96	1,88	1,89	1,88	1,85	1,80	1,51	1,16	0,99	0,99
Anticuerpo A (O.D.)	1,87	1,88	1,87	1,82	1,80	1,78	1,79	1,79	1,73	1,74

Epítopo

Un Fab para el Anticuerpo A se genera al trincar enzimáticamente el Anticuerpo A con papaína inmovilizada (resina de agarosa) (ThermoFisher Scientific), seguido de una purificación estándar de la columna ProA (GE Healthcare Life Sciences) para extraer el Fc soluble y libre y la IgG no truncada. El flujo continuo que contiene el Fab se recolecta para la concentración y el intercambio de amortiguador. La hTim-3-IgV-FLAG se purifica a partir del sobrenadante de 293HEK con un protocolo estándar de resina anti-FLAG (Sigma-Aldrich). El dominio hTim-3-IgV representa los residuos de aminoácidos S22 a K130 de Tim-3 humana (SEQ ID:1). El flujo continuo se vuelve a ejecutar en la columna de resina varias veces. Después de cada ejecución, se utiliza SDS-PAGE (geles de Bis-Tris al 4-12 % NuPAGE Novex; Invitrogen) y HPLC (gel de TSK G3000 SW XL (dimensiones: 7,8mm, ID 30 CM, 5 µM; TOSHO BioSCIENCE) para determinar la calidad de la proteína hTim-3-FLAG. Las proteínas de las mejores rondas se combinan para generar el lote final.

La hTim-3-IgV-FLAG, a 2,17 mg/ml en amortiguador TBS, pH 7,2, y el anticuerpo A-Fab, a 6,79 mg/ml, se combinan en una relación molar de 1:1, y el complejo se aísla por medio de cromatografía de exclusión por tamaño con una concentración final de 6,9 mg/ml en 20 mM de HEPES, pH 7,4, y 150 mM de cloruro de sodio. El complejo Tim-3-anti-Tim-3 se cribó en cinco cribados de cuadrícula Qiagen a 8 °C y 21 °C mediante el método de difusión de vapor de gotas sentadas. Las gotas se configuran por medio de un robot de manipulación de líquidos Art Robbins Phoenix que distribuye 0,3 µl de solución de cristalización sobre 0,3 µl de proteína. Se obtienen 100-200 µm de prismas intercaladas a 21 °C en PEG 3350 al 20 % y cloruro de litio 0,2 M. Los cristales se recolectan y se crioprotegen en una solución hecha a partir de la condición de cristalización complementada con etilenglicol al 20 % antes de la congelación instantánea con

nitrógeno líquido. Se recopila un conjunto de datos en el Laboratorio Nacional Argonne que se difracta a 2,2 Å en el grupo espacial P21 con parámetros de celda $a = 74,62 \text{ Å}$, $b = 57,85 \text{ Å}$, y $c = 74,71 \text{ Å}$.

La estructura del Anticuerpo A-Fab en complejo con Tim-3 humana se determina mediante reemplazo molecular con el programa Phaser. Las estructuras Fab de alta resolución y disponibles públicamente y la estructura publicada de Tim-3 murina se pueden usar como modelos de reemplazo molecular. La estructura se refina con el programa Refmac y el modelo se reconstruye con el programa COOT. Los factores R de refinamiento finales son R de trabajo=20,2 %, R libre=23,4 %. No hay infractores de Ramachandran, y el 96,4 % de los residuos se encuentran en la región favorecida del gráfico de Ramachandran. Hay una densidad que indica glicosilación en Asn99 de Tim-3 (SEQ ID NO: 1).

Biacore T200 se utiliza para determinar la cinética de fijación de hTim-3-IgV-FLAG al Anticuerpo A-Fab capturado. En HBS-EP como un amortiguador de corrida, la fijación 1:1 de este complejo a 25 °C tiene una k_{on} de $3,62E+05 \text{ 1/Ms}$, una k_{off} de $2,86E-03 \text{ 1/s}$, y una K_D de $7,92E-09 \text{ M}$.

En experimentos realizados esencialmente como se describe en este ensayo, el complejo del Anticuerpo A-Fab/hTim-3 se resuelve y el epítopo/parátipo se ilustra en la Tabla 6 a continuación. La Tabla 6 enumera a continuación los residuos en el Anticuerpo A-Fab que están dentro de 6Å de los residuos enumerados en hTim-3 (SEQ ID NO: 1). La cadena pesada del Anticuerpo A-Fab tiene 62 contactos (límite 6 Å) con hTim-3, mientras que la cadena liviana tiene 34 contactos (límite 6 Å).

Tabla 6

Tim-3 (Epítipo)	Cadena pesada del Anticuerpo A (Parátipo)	Cadena liviana del Anticuerpo A (Parátipo)
P50	S54	--
K55	--	Y32
G56	--	Y32
A57	--	Y30, Y32, N92
C58	--	Y32, A91, N92, S93
P59	Y99, T102	Y32, A91, N92, S93
V60	Y59, Y99, T102	Y32, Q89, Q90, A91, N92, S93, F94, P95, P96
F61	Y33, S35, W47, A50, Y59, Y99, A100, T102, F104	A91, F94, P96
E62	S31, Y33, Y59, Y99, R101	--
C63	Y99, R101, T102	Y32
G64	T102	Y32
N65	T102	N31, Y32, A50
E72	S54	--
I107	--	T30

R111	Y33, Y59	--
Q113	Y33, S52, G53, S54, G55, G56, S57, Y59	--
I114	G56, S57	--
P115	G56, S57	--
G116	G56, S57, T58, Y59	--
I117	G56, S57, T58, Y59, Y60, K65	--
M118	S57, T58, Y59, Y60, A61, D62, K65	F94
N119	T58, Y59	--
D120	Y33, S57, Y59	--
K122	--	N92, F94

Estudio de cinética/afinidad para el Anticuerpo A

Se puede usar un instrumento Biacore T100 para medir la cinética de la fijación del antígeno de brazo único (SAG) Tim-3-IgV-Fc humano al Anticuerpo A capturado. Las superficies aglutinantes de Fab humano se preparan mediante acoplamiento de aminas de aglutinante de Fab humano (GE Healthcare) con una superficie del chip sensor Biacore CM5. Los anticuerpos de prueba son capturados por el chip por medio de un amortiguador HBS-EP (GE Healthcare) como el amortiguador de corrida. El Tim-3 SAG se diluye en el amortiguador de corrida a partir de 30 nM con un factor de dilución de 3 para obtener concentraciones de 0,04, 0,12, 0,37, 1,11, 3,33, 10 y 30 nM. El amortiguador o analito del Tim-3 SAG diluido se inyecta a 30 μ L/min durante 180 segundos y el complejo de disociación se monitorea a 1200 segundos. La superficie de fijación se vuelve a generar al inyectar 10mM de glicina-HCl, pH 2,1, a 30 μ L/min, 30 segundos de dos inyecciones para cinco concentraciones más bajas y dos inyecciones a 60 segundos para dos concentraciones más altas entre cada ciclo de fijación del analito. Los datos experimentales para una interacción antígeno/Ab determinada se ajustan con un modelo *Langmuir 1:1 con transporte de masa*.

En experimentos realizados esencialmente como se describe anteriormente, el Anticuerpo A se fija a Tim-3 humana con las constantes de cinética y afinidad ilustradas en la Tabla 7.

Tabla 7

Anticuerpo	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (M)	$R_{m\acute{a}x}$	χ^2
Anticuerpo A	2,33E+06	9,27E-04	3,98E-10	17,09	0,319

Resonancia de plasmones superficiales (SPR)

La inmovilización de PD-1-Fc humano (R&D Systems) como un ligando en la superficie del chip sensor se lleva a cabo a 25 °C. Los anti-anticuerpos de la presente invención se usan como analito, y se inyectan sobre la superficie del chip sensor de PD-1-Fc humano inmovilizado. Todos los analitos de la muestra se ejecutan en diluciones en serie de 3 veces desde su concentración

inicial (90 nM), 8 diluciones totales con un duplicado a una concentración media y un cero. El análisis se realiza a 37 °C. El tiempo de contacto para cada muestra es de 180 segundos a 30 μ L/min. Tiempo de disociación: 300 segundos para 5 concentraciones más bajas y 1200 (Fab), o 2400 (T=0) o 3000 (4 semanas a 4 °C, 25 °C, 40 °C) segundos para 3 concentraciones más altas. La superficie inmovilizada se vuelve a generar durante 6-8 segundos con SDS al 0,4 % a 30 μ L/min, y luego se estabiliza durante 5 segundos. La cinética de fijación se analiza con el software de evaluación Biacore T200 (versión 3.0). Los datos se refieren a una celda de flujo en blanco, y los datos se ajustan a un modelo de fijación de 1:1.

En los experimentos realizados esencialmente como se describe en este ensayo, el Anticuerpo D se fija a PD-1 humana con una K_D de 102 pM, a nivolumab con una K_D de 246 pM y a pembrolizumab con una K_D de 181 pM. Como se muestra en la Tabla 8, el Anticuerpo D mantuvo la actividad de fijación a las 4 semanas en condiciones de temperatura elevada.

Tabla 8: fijación mediante SPR del Anticuerpo D en tiempos y temperaturas prolongados

Fijación a PD-1-Fc humano	K_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (pM)
Anticuerpo D	2,86E+05	2,98E-05	104
Anticuerpo D, 4 semanas a 4 °C	3,77E+05	3,86E-05	103
Anticuerpo D, 4 semanas a 25 °C	3,54E+05	3,60E-05	102
Anticuerpo D, 4 semanas a 40 °C	3,58E+05	4,22E-05	118

Bloqueo de la interacción de PD-1 humana con PD-L1 y PD-L2

Para el ensayo de bloqueo del receptor-ligando, las cantidades variables del anticuerpo anti-PD-1 indicado o de la IgG de control se mezclan con una cantidad fija de proteína de fusión PD-1-Fc biotinilada (100 ng/ml) y se incuban a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se transfiere a placas de 96 cavidades previamente recubiertas con PD-L1-Fc (100 ng/cavidad) o PD-L2-Fc (100 ng/cavidad) y luego se incuba a temperatura ambiente durante 1 hora adicional. Las placas se lavan y se agrega conjugado de estreptavidina-HRP. Las placas se leen a una absorbancia a 450 nm. La IC₅₀ representa la concentración de anticuerpo requerida para una inhibición del 50 % de la fijación de PD-1 a PD-L1 o la fijación a PD-L2.

En experimentos realizados esencialmente como se describe, el Anticuerpo D bloquea la interacción de PD-1 con PD-L1 con una IC₅₀ de 0,30 nM, y la interacción de PD-1 con PD-L2 con una IC₅₀ de 0,34 nM.

Fijación a PD-1 humana en células CHO

La fijación de un anticuerpo de la presente invención a PD-1 humana puede medirse mediante citometría de flujo.

Las células CHO ($0,2 \times 10^6$) se incuban con un anticuerpo de 200 nM titulado 19x por un factor de 2 a la concentración más baja de 3,185 pM durante 30 min en PBS al 1 % de BSA en hielo. Luego, las células se lavan 3x y se incuban con un anticuerpo secundario (etiquetado con

PE, a una concentración final de 5 µg/ml) en PBS al 1 % de BSA durante 30 minutos en hielo (protegidas de la luz). Las células se lavan 3x y se analizan mediante citometría de flujo. La citometría de flujo se realiza en un sistema Accuri C6 (BD Biosciences), y las MFI se calculan en el software C6. Las EC50 se calculan en el software Graphpad.

En experimentos realizados esencialmente como se describe en este ensayo, el Anticuerpo G se fija a PD-1 de manera dependiente de la dosis, con un valor de EC50 (n=1) de 1,756 nM, y el pembrolizumab se fija a PD-1 con un valor de EC50 (n=1) de 1,429 nM. El anticuerpo D se fija a PD-1 de manera dependiente de la dosis, con un valor de EC50 (n=1) de 0,9784 nM, pembrolizumab con un valor de EC50 (n=1) de 0,9510 nM, y nivolumab con un valor de EC50 (n=1) de 0,9675 nM. El Anticuerpo D se fija con una EC50 similar a PD-1 humana como nivolumab y pembrolizumab en estas condiciones.

Bloqueo de PD-1 humana a PD-L2 en células CHO

La capacidad de un anticuerpo anti-PD-1 humana de la presente invención para bloquear la fijación de PD-1 humana a PD-L1 y PD-L2 se puede medir mediante citometría de flujo.

Las células CHO ($0,2 \times 10^6$) se incuban con 100 nM del anticuerpo experimental durante 30 minutos en PBS al 1 % de BSA en hielo. Luego, las células se lavan 3X y se incuban con PD-L2 ligado a NHS-Fluoresceína (Promega) en PBS al 1 % de BSA durante 30 minutos en hielo (protegidas de la luz). Las células se lavan 3x y se analizan mediante citometría de flujo. La citometría de flujo se realiza en un sistema Accuri C6 (BD Biosciences) y la media de intensidad de fluorescencia (MFI) se calcula en el software C6.

En los experimentos realizados esencialmente como se describe en este ensayo, el Anticuerpo D, en formato de IgG1 y expresado en levadura, bloqueó la fijación de PD-L2-FITC humano, lo que dio como resultado una MFI de 24.697,7 en comparación con la IgG de control que dio como resultado una MFI de 182.959,1. El pembrolizumab y el nivolumab dieron como resultado un menor bloqueo de la fijación PD-L2 a PD-1 que el Anticuerpo D con una MFI de 46.245,9.

Tabla 7: bloqueo de PD-1 humana en células CHO

Muestra de prueba	MFI (PD-L2-FITC)
Solo células	33.449,7
Sin IgG	199,716,0
Control de IgG	182.959,1
Nivolumab	54.509,8
Pembrolizumab	46.245,9
Anticuerpo D en formato de IgG1	24.697,7

Secuencias de aminoácidos y nucleótidos

SEQ ID NO: 1 (Tim-3 humana) (Homo Sapiens)

MFSHLPFDCVLLLLLLLLLRSSEVEYRAEVGQNAYLPCFYTPAAPGNLVPVCWGKGACPVFECGN
VVLRTDERDVNYWTSRYWLNGLDFRKGDVSLTIENVTLADSGIYCCRIQIPGIMNDEKFNLKLVK

SEQ ID NO: 2 (HCDR1 del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

AASGFTFSSYYMS

SEQ ID NO: 3 (HCDR2 del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

AISGSGGSTYYADSVKG

SEQ ID NO: 4 (HCDR3 del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

ARYARTAFDL

SEQ ID NO: 5 (LCDR1 del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

QASQDIYNYLN

SEQ ID NO: 6 (LCDR2 del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

YAASSLQS

SEQ ID NO: 7 (LCDR3 del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

QQANSFPPT

SEQ ID NO: 8 (HCVR del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADS
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYARTAFDLWGQGTLTVSS

SEQ ID NO: 9 (LCVR del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

DIVMTQSPSSLSASVGDGVTITCQASQDIYNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPPTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 10 (HC del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADS
VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYARTAFDLWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPL
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE
VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNAKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 11 (LC del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

DIVMTQSPSSLSASVGDGVITTCQASQDIYNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV
THQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 12 (ADN de la HC del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGCGGAGGGCTGGTGCAGCCGGGAGGCAGCCTCAGGCTG
AGCTGCGCTGCGAGCGGGTTTACTTTCTCGTCGTACTATATGTCGTGGGTGAGACAAGCACC
AGGTAAAGGACTTGAGTGGGTGTCCGCTATCTCAGGCAGCGGAGGATCCACCTACTACGCG
GATTCAGTCAAGGGAAGATTCACTATCTCGCGCGACAATTCCAAGAACACCCTGTACCTCCAG
ATGAACTCGCTGCGGGCAGAAGATACGGCCGTGTACTACTGTGCCCGCTACGCCCGGACCG
CCTTCGACTTGTGGGGTCAGGGAACCCTGGTCACTGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCA
TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCT
GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTTGAACTCAGGCGCACTGAC
CAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCG
TGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATG
CCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGAGGGGGCACCCTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAA
CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA
GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC
AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAAGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC
CCATCCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA
CACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTCAGCCTGACCTGCCTGGTC
AAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA

ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATTCCAAGCTCA
CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC
TCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGCAAA

SEQ ID NO: 13 (ADN de la LC del Anticuerpo A) (secuencia artificial)

GACATCGTGATGACTCAAAGCCCTTCAAGCCTCTCGGCGTCAGTCGGTGATGGCGTGACCAT
TACCTGTCAAGCATCCCAAGACATCTACAACACTTGAATTGGTACCAGCAGAAGCCAGGGAA
AGCCCCGAAGCTGCTGATCTACGCCGCCTCCTCACTTCAGAGCGGAGTGCCATCCCGCTTTT
CCGGATCGGGGAGCGGAACGGATTTCACTCTGACCATCTCGTCGCTGCAACCGGAGGACTT
CGCGACTTACTATTGCCAGCAGGCTAACTCGTTCCCGCCCACTTTCGGACAGGGCACCAAGC
TCGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGT
TGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG
TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAG
GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACG
AGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAG
AGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

SEQ ID NO: 14 (CEACAM1 humana) (Homo Sapiens)

MGHLSAPLHRVRVPWQGLLLTASLLTFWNPPTTAQLTTESMPFNVAEGKEVLLL VHNLPQQFLGY
SWYKGERVDGNRQIVGYAIGTQQATPGPANSGRETIYPNASLLIQNVTQNDTG FYTLQVIKSDLVN
EEATGQFHVPELPKPSISSNNSNPVEDKDAVAFTCEPETQDTTYLWWINNQSLPVSPRLQLSNG
NRTLTL SVTRNDTGPYECEIQNPVSANRSDPVT LNVTYGPDTPTISP SDTYRPGANLSLSCYAA
SNPPAQYSWLINGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCHANNSVTGCNRTTVKTIIVTELSPVVAKPQ
IKASKTTVTGDKDSVNLTCSTNDTGISIRWFFKNQSLPSSERMKLSQGN TTLSINPVKREDAGTYW
CEVFNPI SKNQSDPIMLNVNYPALPQENGLSPGAIAGIVIGVVALVALIAVALACFLHFGKTGRASD
QRDLTEHKPSVSNHTQDHSNDPPNKMNEVTYSTLNFEAQQPTQPTSASPSLTATEI IYSEVKKQ

SEQ ID NO:15 (galectina-9 humana) (Homo Sapiens)

MAFSGSQAPYLSPAVPFSGTIQGGLQDGLQITVNGTVLSSSGTRFAVNFQTGFSGNDIAHFHNPR
FEDGGYVVCNTRQNGSWGPEERKTHMPFQKGMPLDCLVQSSDFKVMVNGILFVQYFHRVPF
HRVDTISVNGSVQLSYISFQPPGVWPANPAPITQTVIHTVQSAPGQMFSTPAIPPMYPHPAYPMP
FITLILGGLYPSKSILLSGTVLPSAQRFHINLCSGNHIAFHLNPRFDENAVVRNTQIDNSWGSEERSL
PRKMPFVRGQSFSVWILCEAHCLKVAVDGQHLEFYHRLRNLPNTINRLEVGGDIQLTHVQT

SEQ ID NO: 16 (HCDR1 del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

KASGGTFSSYAIS

SEQ ID NO: 17 (HCDR2 del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

LIIPMFDTAGYAQKFQG

SEQ ID NO: 18 (HCDR3 del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

ARAEHSSTGTFDY

SEQ ID NO: 19

RASQGISSWLA (LCDR1 del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

SEQ ID NO: 20 (LCDR2 del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

SAASSLQS

SEQ ID NO: 21 (LCDR3 del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

QQANHLPFT

SEQ ID NO: 22 (HCVR del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGLIIPMFDTAGYAQKF
QGRVAITVDESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARAEHSSTGTFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 23 (LCVR del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLISAASSLQSGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANHLPFTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 24 (HC del Anticuerpo D - S228P IgG4) (secuencia artificial)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGLIIPMFDTAGYAQKF

QGRVAITVDESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARAEHSSTGTFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVF
PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 25 (HC del Anticuerpo E - des-Lys de PAA IgG4) (secuencia artificial)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGLIIPMFD TAGYAQKF
QGRVAITVDESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARAEHSSTGTFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVF
PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
SLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGL

SEQ ID NO: 26 (LC del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIS SWLAWYQQKPGKAPKLLISAASSLQSGVPSRFSGS
GSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQANHL PFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV
THQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 27 (ADN de la HC del Anticuerpo D - S228P IgG4) (secuencia artificial)

CAAGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCTGAGGTGAAAAAACCCGGATCCTCCGTCAAGGTGT
CCTGTAAAGCCAGCGGCGGCACATTCAGCAGCTACGCCATCTCCTGGGTGAGGCAAGCTCCT
GGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCCTGATCATCCCCATGTTTCGACACCGCCGGCTACGCTC
AGAAATTCCAGGGCCGGGTCGCCATTACAGTGGATGAGAGCACCAGCACAGCCTACATGGA
GCTCAGCTCCCTGAGGAGCGAAGATACCGCCGTCTACTATTGTGCCCCGGGCTGAGCATAGCA
GCACCGGCACCTTCGACTATTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACAGTGAGCTCCGCTTCCAC
AAAAGGCCCCAGCGTGTTTCCCCTGGCCCCTTG TAGCAGGTCCACCTCCGAAAGCACAGCCG
CTCTGGGCTGCCTGGTCAAGGATTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAATAGCGGC
GCTCTCACATCCGGAGTGCATACCTTTCCTGCCGTGCTCCAGTCCTCCGGCCTGTACTCCCT
GAGTCCGTGGTGACCGTCCCTTCCAGCTCCCTGGGCACCAAGACCTATACCTGTAACGTGG
ACCACAAGCCCTCCAATACCAAGGTGGATAAGCGGGTCGAGTCCAAGTACGGACCCCCTTGC
CCTCCTTGTCCTGCTCCTGAATTCCTCGGCGGACCTAGCGTCTTTCTTCCCCCCCCAAGCCC

AAGGATACCCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACATGCGTCGTGGTTCGATGTGTCCCA
GGAGGATCCTGAAGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTCGAAGTGCATAACGCCAAGA
CCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTCAACTCCACCTATCGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCT
GCATCAGGACTGGCTCAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGGACTCCCCCT
CCAGCATCGAGAAGACCATTAGCAAGGCCAAAGGCCAACCCAGGGAGCCTCAGGTATATACG
CTGCCCCCAGCCAGGAGGAGATGACCAAAAACCAGGTCAGCCTCACCTGTCTGGTCAAGG
GCTTCTACCCTAGCGACATTGCTGTGAGTGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTAT
AAAACCACCCCCCTGTCCTGGACTCCGACGGATCCTTCTTCTGTACTCCAGGCTGACAGT
CGACAAGTCCCGGTGGCAAGAGGGAAACGTCTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAAGCTCTCC
ACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTCAGCCTGTCCCTGGGCAAATGATGA

SEQ ID NO: 28 (ADN de la HC del Anticuerpo E - des-Lys de PAA IgG4) (secuencia artificial)

CAGGTGCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGAAGAAGCCCGGCAGCTCCGTGAAGGTGT
CTTGCAAGGCCAGCGGCGGAACATTCTCCAGTTACGCCATCTCTTGGGTGCGGCAGGCTCCA
GGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCCTGATCATCCCCATGTTTCGACACCGCCGGGTATGCCC
AGAAGTTTCAGGGCAGAGTGGCAATCACAGTGGACGAGAGCACCTCCACAGCCTACATGGAG
CTGTCTAGCCTGAGATCCGAGGATACCGCCGTGTATTATTGTGCCCCGGGCCGAACACAGCTC
TACAGGGACTTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGTCTCTGCTAGCACCA
AGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTCGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGC
CCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGC
GCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT
CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGCAACGTA
GATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATG
CCCACCCTGCCCAGCACCTGAGGCCGCCGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAA
CCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGTGGACGTGA
GCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTATGTTGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCC
AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG
TCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGGCCTC
CCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTA
CACCTGCCCCCATCCCAAGAAGAAATGACCAAAAACCAAGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA
AAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAAAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAA
CTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACTCCCGTCTAA
CCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC
TCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGT

SEQ ID NO: 29 (ADN de la LC del Anticuerpo D y el Anticuerpo E) (secuencia artificial)

GACATCCAGATGACACAGTCCCCTAGCTCCGTGTCCGCTTCCGTGGGAGACAGGGTGACAAT
CACATGCAGGGCTTCCCAGGGCATCAGCAGCTGGCTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCCGGC
AAGGCCCCCAAGCTGCTGATCAGCGCTGCTAGCTCCCTGCAGTCCGGAGTGCTTCCAGGTT
CTCCGGCTCCGGAAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCAGCCTGCAGCCCGAGGAC
TTCGCCACCTACTACTGCCAACAGGCCAACACCTGCCCTTCACCTTCGGCGGGCGGCACCAA
GGTGGAGATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTTCCCCCAGCGACGAG
CAGCTGAAGAGCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTATCCCCGGGAGG
CCAAGGTGCAGTGGAAGGTGCGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACTCCCAGGAGAGCGTGAC
CGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTACTCCCTGAGCTCCACCCTGACACTGTCCAAGGCC
GACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACACACCAGGGCCTGAGCTCCCCCG
TGACCAAGTCCTTCAACAGGGGCGAGTGCTGATGA

SEQ ID NO: 30 (Cadena pesada del nivolumab) (secuencia artificial)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLDCKASGITFSNSGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKRYYADS
VKGRFTISRDNKNTLFLQMNSLRAEDAVYYCATNDDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCS
RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKT
YTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
PSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 31 (Cadena liviana del nivolumab) (secuencia artificial)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSG
SGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQSSNWPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV
THQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 32 (Cadena pesada del pembrolizumab) (secuencia artificial)

QVQLVQSGVEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYYMYWVRQAPGQGLEWMGINPSNGGTNENE
KFKNRVTLTDSSTTTAYMELKSLQFDDTAVYYCARRDYRFDMGFDYWGQGTITVTVSSASTKGP
SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV
PSSSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY

KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTTPVLDSGSSFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO: 33 (Cadena liviana del pembrolizumab) (secuencia artificial)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASKGVSTSGYSYLHWYQQKPGQAPRLLIYLAstyleSGVPARF
SGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQHSRDLPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA
CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:34 (PD-1 humana) (Homo Sapiens)

MQIPQAPWPVWVAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPTFSPALLVTEGDNATFTCSFSNTSESF
VLNWYRMSPSNQTDKLAAPFEDRSQPGQDCRFRVTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSGTYLCGAI
SLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAGQFQTLVVGVGGLLGSLLVLLVWVLAVIC
SRAARGTIGARRTGQPLKEDPSAVPVFSVDYGELDFQWREKTPEPPVPCVPEQTEYATIVFPSGM
GTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWPL

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar el cáncer que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación simultánea, separada o secuencial con una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.
4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el anticuerpo anti-PD1 humana es nivolumab o pembrolizumab.
5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23.
7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.
8. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el cáncer es melanoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células no pequeñas.
11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante.
12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con uno o más agentes quimioterapéuticos.
13. Un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para su uso en combinación simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34), en el tratamiento contra el cáncer, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.
14. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.
15. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.
16. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13-15, en donde el anticuerpo anti-PD1 humana es nivolumab o pembrolizumab.
17. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13-15, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21.

18. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23.

19. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

20. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

21. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13-20, en donde el cáncer es melanoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado.

22. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con la reivindicación 21, en donde el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células no pequeñas.

23. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13-22, en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante.

24. El anticuerpo anti-Tim-3 humana para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13-23, en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con agentes quimioterapéuticos.

25. El uso de un anticuerpo anti-Tim-3 humana (SEQ ID NO: 1) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se debe administrar de manera simultánea, separada o secuencial con un anticuerpo anti-PD-1 humana (SEQ ID NO: 34); en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, LCDR1 que tiene la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

26. El uso de acuerdo con la reivindicación 25, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9.

27. El uso de acuerdo con la reivindicación 26, en donde el anticuerpo anti-Tim-3 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11.

28. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25-27, en donde el anticuerpo anti-PD1 humana es nivolumab o pembrolizumab.

29. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25-27, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende HCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17, HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, LCDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20, y LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21.

30. El uso de acuerdo con la reivindicación 29, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una región variable de la cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23.

31. El uso de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

32. El uso de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el anticuerpo anti-PD-1 humana comprende una cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una cadena liviana que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26.

33. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25-32, en donde el cáncer es melanoma, cáncer de pulmón, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, sarcoma de tejidos blandos o cáncer de hígado.

34. El uso de acuerdo con la reivindicación 33, en donde el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón de células no pequeñas.

35. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25-34, en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación

simultánea, separada o secuencial con radiación ionizante.

36. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 25-35, en donde al menos uno del anticuerpo anti-Tim-3 humana y el anticuerpo anti-PD-1 humana se administra en combinación simultánea, separada o secuencial con uno o más agentes quimioterapéuticos.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a anticuerpos que se fijan a la proteína 3 que contiene el dominio de mucina y el dominio de inmunoglobulina de los linfocitos T humanos (Tim-3), y pueden ser útiles para el tratamiento de tumores sólidos y hematológicos en combinación con anticuerpos anti-PD-1 humana, quimioterapia y radiación ionizante.



(51) International Patent Classification:

C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2017/064480

(22) International Filing Date:

04 December 2017 (04.12.2017)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

62/431,480 08 December 2016 (08.12.2016) US

(71) Applicants: ELI LILLY AND COMPANY [US/US];
Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285
(US). INNOVENT BIOLOGICS (SUZHOU) CO. LTD.
[CN/CN]; 168 Dongping Street, Suzhou Industrial Park,
Suzhou, Jiangsu 215123 (CN).

(72) Inventors: LI, Yiwen; c/o Eli Lilly And Company,
P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US).
ZHANG, Yi; c/o Eli Lilly And Company, P.O. Box 6288,
Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US).

(74) Agent: GARCIA, Carlos A. et al.; Eli Lilly And Company,
P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana 46206-6288 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP,
KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,
OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(54) Title: ANTI-TIM-3 ANTIBODIES FOR COMBINATION WITH ANTI-PD-1 ANTIBODIES

(57) Abstract: The present invention relates to antibodies that bind human T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing protein-3 (Tim-3), and may be useful for treating solid and hematological tumors in combination with anti-human PD-1 antibodies, chemotherapy, and ionizing radiation.



PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/US2017/064480

International filing date (day/month/year)
04.12.2017

Priority date (day/month/year)
08.12.2016

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07K16/28 A61P35/00 ADD. A61K39/00

Applicant
ELI LILLY AND COMPANY

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Malamoussi, A

Telephone No. +49 89 2399-0



Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed.
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-36</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-36</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-36</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

Reference is made to the following documents:

- D1** **WO 2016/007513** A1 (DANA FARBER CANCER INST INC [US]) 14 January 2016 (2016-01-14)
- D2** **WO 2014/179664** A2 (ANAPTYSBIO INC [US]) 6 November 2014 (2014-11-06)
- D3** **Jennifer E. Kim ET AL:** "Combination Therapy with Anti-PD-1, Anti-TIM-3, and Focal Radiation Results in Regression of Murine Gliomas", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 23, no. 1, 1 January 2017 (2017-01-01), pages 124-136, XP055406617, US ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1535
- D4** & **CN 103 721 255** A (UNIV SOOCHOW) 16 April 2014 (2014-04-16)
- D10** **D9:** machine translation of **CN 103 721 25**
- D5** **Shohei Koyama ET AL:** "Adaptive resistance to therapeutic PD-1 blockade is associated with upregulation of alternative immune checkpoints", Nature Communications, vol. 7, 17 February 2016 (2016-02-17), page 10501, XP055309591, DOI: 10.1038/ncomms10501
- D6** **WO 2016/161270** A1 (ANAPTYSBIO INC [US]) 6 October 2016 (2016-10-06)
- D7** **S. F. NGIOW ET AL:** "Anti-TIM3 Antibody Promotes T Cell IFN-gamma-Mediated Antitumor Immunity and Suppresses Established Tumors", CANCER RESEARCH, vol. 71, no. 10, 23 March 2011 (2011-03-23), pages 3540-3551, XP055181433, ISSN: 0008-5472, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0096
- D8** **US 2012/189617** A1 (TAKAYANAGI SHIN-ICHIRO [JP] ET AL) 26 July 2012 (2012-07-26)
- D9** **WO 2013/006490** A2 (CELLERANT THERAPEUTICS INC [US]; KARSUNKY HOLGER [US]; JIANG YING-PING) 10 January 2013 (2013-01-10)

1 **Most relevant prior art documents**

D1 discloses that sequential blockade of PD-1 and TIM-3 by antibodies 29F.29F.1A12 and RMT3-23, respectively, displays clinical efficacy in anti-PD-1 adaptive resistant tumors (Fig. 10B, p. 5, [0029]-p. 6, [0030], p. 18, [0089]).

D2 relates to antibodies directed against human PD-1 (p. 37, [0111]). Combination of anti-human PD1-antibody APE29058 with a fully human anti-TIM3 antibody resulted in enhanced T-cell activation with increased amounts of IL-2 production (p. 40, [0121]).

D3 (published online first June 29, 2016) discloses the treatment of mice implanted with murine glioma with the combination of anti-PD-1 and anti-TIM-3 antibody plus/minus focal radiation (stereostatic radiosurgery, SRS) (abstract). The antibodies used were a hamster monoclonal anti-murine PD-1 antibody and an anti-murine TIM-3 antibody, clone RMT3-23 (p. 125, right col., paragraph 2).

D4 discloses the co-administration of PD-1 and TIM-3 antibodies to treat stomach cancer (abstract, see enclosed machine translation **D10**, p. 1, paragraph 1). The combination of a blocking anti-human PD-1 with a blocking anti-human TIM-3 antibody (clone 2E2) showed a significant increase in IFN- γ , IL-2 and TNF- α secretion from T-cells (fig. 8D) and an improved tumor cell killing (in-vitro) compared to either antibody alone (fig. 9) (see also p. 6, of machine translation).

D5 discloses that sequential anti-TIM-3 (antibody clone RMT3-23) blocking displays clinical efficacy in anti-PD-1 (antibody clone 29F.1A12) adaptive resistant tumors (abstract, fig. 3, p. 8, left col., paragraph 2).

D6 describes anti-human Tim-3 antibodies (example 1, table 1), that were used in combination with antagonistic anti-PD-1 antibodies. Combination of anti-Tim-3 and anti-PD-1 antibodies result in increased T-cell activation with increased IL-2 production (Fig. 1A-1D). Surrogate rat antibodies recognizing mouse PD-1 (RMP1-14) and mouse Tim-3 (RMT3-23) were tested in a syngeneic mouse tumour model (example 3). Co-administration of anti-PD-1 with anti-Tim-3 antibodies resulted in inhibition of tumour growth, suggesting that dual blockade of immune checkpoint pathways could lead to increased clinical efficacy (p. 37, [0101] and fig. 3).

D7 discloses combination studies of anti-Tim-3 antibody with anti-CDTL4 or anti-PD1 against experimental and carcinogen-induced tumors in mice (abstract). Anti-mouse Tim3 antibody RMT3-23 was used in combination with

anti-mouse PD-1 antibody CD279 (p. 3541, left col., paragraph 3) and showed significant reduction of tumor size in mice with established B16F10, MC38 and CT26 tumours (fig. 6, 7).

D8 discloses an anti-human Tim-3 antibody having ADCC activity (examples 8-13).

D9 teaches anti-human Tim-3 antibodies (example 1).

2 **Rule 39.1(iv) / 67.1(iv) PCT**

Claims 1-36 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of **Rule 39.1(iv) / 67.1(iv) PCT**:

The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment. Patentability, in particular novelty and inventive step, of **claims 1-36** has been assessed on the basis of a purpose-limited product claim taking into account the alleged effects of the compound/composition.

In case the application enter the European Regional Phase, the applicant is informed that

1) claims in the format "Substance/composition X for use in the treatment of disease Y" are considered allowable (c.f. claims 13-24) , and

2) a claim in the form "Use of a substance or composition X for the manufacture of a medicament for therapeutic application Z" is allowable for either a first or "subsequent" (second or further) such application ("Swiss-type" claim), if this application is new and inventive and has a filing or earliest priority date before 29 January 2011 (which is presently not the case).

3 **Novelty (Art. 33(2) PCT)**

The prior art documents at hand do not disclose an anti-human Tim-3 antibody comprising the 6 CDRs disclosed in present **claim 1** for use in the treatment of cancer, wherein the antibody is used in simultaneous, separate or sequential combination with an anti-human PD-1 antibody.

Therefore, the subject matter of **claims 1-36** appears to be novel (**Art. 33(2) PCT**).

4 **Inventive Step (Art. 33(3) PCT)**

5 **D6** is considered to represent the closest prior art document for the subject matter of **claim 1**. Alternatively, any of **D1-D5**, or **D7** could represent the closest prior art document for the subject matter of **claim 1**.

The subject matter of **claim 1** differs from **D6** (or any of **D1-D5**, or **D7**) in that an anti-human Tim-3 antibody comprising the 6 recited CDRs is used in combination with the anti-human PD-1 antibody.

The technical effect caused by this difference is that the antibody binds to human Tim-3 and comprises the disclosed 6 CDRs.

The objective technical problem may be regarded as the provision of an alternative anti-Tim3 antibody for use in combination with an anti-PD-1 antibody for use in the treatment of cancer.

Starting from the disclosure of **D6** (or any of **D1-D5**, or **D7**), the skilled person aiming at providing an alternative anti-Tim3 antibody for use in combination with an anti-PD-1 antibody for use in the treatment of cancer, would provide an anti-human Tim-3 antibody in order to treat human cancers following the teachings of **D6** (or any of **D1-D5**, or **D7**) without being inventive. The skilled person would have had a clear incentive to provide an antibody which is useful for human therapy. Furthermore, such anti-human Tim-3 antibodies appear to be obtainable by common techniques. Moreover, documents **D2**, **D6**, **D8-D9** each provide evidence that the production and selection of anti-human Tim-3 monoclonal antibody does not represent any burden for the person skilled in the art and provide further evidence that said anti-human Tim-3 monoclonal antibodies are useful in human therapy for the treatment of various diseases including cancers.

Therefore, the subject matter of independent **claims 1, 13 and 25** does not involve an inventive step in view of **D6** or any of **D1-D5**, or **D7**, and common general knowledge, or a combination of any of **D1-D7** with **D8** or **D9** (**Art. 33(3) PCT**)

The same reasoning applies to **claims 2-12, 14-24 and 26-36**, which do not appear to contain any additional features which, in combination with the features of any claim to which they refer, meet the requirements of the PCT with respect to inventive step, since these additional features appear conventional and do not result in any unexpected technical effect (**Art. 33(3) PCT**).

Re Item VIII

6 Certain observations on the international application

- 6.1 Contrary to the requirements of Rule 5.1(a)(ii), PCT, the relevant background art disclosed in **D1-D7**, is not mentioned/discussed in the description, nor are these documents identified therein (Guidelines 4.05).