

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021年7月15日 (15.07.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/139777 A1

(51) 国际专利分类号:

C07K 16/28 (2006.01) *C12N 5/10* (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/070903

(22) 国际申请日: 2021年1月8日 (08.01.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202010024565.9 2020年1月10日 (10.01.2020) CN

(71) 申请人: 上海复宏汉霖生物技术股份有限公司 (SHANGHAI HENLIUS BIOTECH, INC.) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区中国 (上海) 自由贸易试验区张衡路1999号7幢303, 304室, Shanghai 201210 (CN)。

(72) 发明人: 杨明 (YANG, Ming); 中国上海市浦东新区中国 (上海) 自由贸易试验区张衡路1999号7幢303, 304室, Shanghai 201210 (CN)。 许文峰 (XU, Wenfeng); 中国上海市浦东新区中国 (上海) 自由贸易试验区张衡路1999号7幢303, 304室, Shanghai 201210 (CN)。 姜伟东 (JIANG, Wei-Dong); 中国上海市浦东新区中国 (上海) 自由贸易试验区张衡路1999号7幢303, 304室, Shanghai 201210 (CN)。 薛杰 (XUE, Jie); 中国上海市浦东新区中国 (上海) 自由贸易试验区张衡路1999号7幢303, 304室, Shanghai 201210 (CN)。

(74) 代理人: 北京律诚同业知识产权代理有限公司 (LECOMME INTELLECTUAL PROPERTY AGENT LTD.); 中国北京市海淀区西土城路1号院1号楼泰富酒店写字楼三层, Beijing 100081 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): 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, IT, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (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)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分 (细则5.2(a))。

(54) Title: ANTI-TIGIT ANTIBODIES AND USAGE METHOD

(54) 发明名称: 抗TIGIT抗体和使用方法

(57) Abstract: Provided are anti-TIGIT antibodies that bind to "a T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains (TIGIT)". Such antibodies comprise multi-specific anti-TIGIT antibodies having binding specificity for TIGIT and one or more additional antigens; and a usage method therefor. Such anti-TIGIT antibodies comprise a single domain antibody that binds to TIGIT.

(57) 摘要: 本发明提供了与"具有Ig和ITIM结构域的T细胞免疫受体 (TIGIT)"结合的抗TIGIT抗体, 这些抗体包括对TIGIT和一种或多种另外的抗原具有结合特异性的多特异性抗TIGIT抗体; 以及其使用方法。这些抗TIGIT抗体包含与TIGIT结合的单结构域抗体。



WO 2021/139777 A1

抗 TIGIT 抗体和使用方法

相关申请的交叉引用

本申请要求 2020 年 1 月 10 日提交的申请号为 CN202010024565.9 的中国专利申请的优
5 先权，其中全部内容引入本文以供参考，并要求其优先权。

技术领域

本发明涉及与具有 Ig 和 ITIM 结构域的 T 细胞免疫受体 (TIGIT) 结合的抗体，这些抗
体包括对 TIGIT 和一种或多种另外的抗原具有结合特异性的多特异性抗 TIGIT 抗体；以及其
10 使用方法。

背景技术

具有 Ig 和 ITIM 结构域的 T 细胞免疫受体 (TIGIT) 是由免疫细胞 (例如活化的 T 细胞
和自然杀伤细胞 (NK 细胞)) 表达的免疫检查点受体，并介导免疫抑制。TIGIT 的配体包括
15 PVR (CD155)，其已在树突状细胞 (DC)、巨噬细胞以及许多人类癌细胞中鉴定出，并已显
示与 TIGIT 结合后可下调 T 细胞活化和细胞因子分泌。TIGIT/PVR 相互作用的抑制可以介导
免疫细胞有效的抗肿瘤活性。考虑到 TIGIT 在免疫检查点调节中的重要作用，在本领域中仍
然需要开发用于调节 TIGIT 介导的免疫细胞调节以用于免疫疗法和癌症治疗的治疗性分子和
方法。

20

发明内容

本公开提供了以高亲和力特异性结合 TIGIT 的分离的单克隆抗体，其包括结合 TIGIT 和
一种或多种另外的靶标的多特异性抗体。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体包含与 TIGIT 结合
的单结构域抗体。本公开进一步提供了制备抗体、免疫缀合物和包含这些抗体的药物组合物
25 的方法，以及使用抗体、免疫缀合物和包含这些抗体的药物组合物例如用于治疗疾病和病症
(例如癌症)的方法。本发明部分地基于发现与 TIGIT 结合的单结构域抗 TIGIT 抗体，这些
抗体可以增加免疫细胞中的免疫应答并提供改善的抗肿瘤功效。

在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体包含与 TIGIT 结合的单结构域抗体。在某些实施例中，
单结构域抗体以约 1×10^{-7} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。在某些实施例中，单结构域抗体以约
30 1×10^{-8} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。在某些实施例中，单结构域抗体以约 5×10^{-9} M 或更小的
KD 结合 TIGIT。在某些实施例中，单结构域抗体以约 2×10^{-9} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。

在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，
该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 94 所示序
列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 95 所示序列的氨基酸；和重链可
35 变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 96 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗

体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合,该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含:
重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 98 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包
含具有 SEQ ID NO: 99 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 100
所示序列的氨基酸。在某些实施例中,单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争
5 与 TIGIT 结合,该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID
NO: 102 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 103 所示序列的氨
基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 104 所示序列的氨基酸。在某些实施例
中,单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合,该参考抗 TIGIT 单
结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 106 所示序列的氨基酸;重链
10 可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 107 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包
含具有 SEQ ID NO: 108 所示序列的氨基酸。在某些实施例中,单结构域抗体与参考抗 TIGIT
单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合,该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,
其包含具有 SEQ ID NO: 110 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO:
111 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 112 所示序列的氨基
15 酸。在某些实施例中,单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合,
该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 114 所示序
列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 115 所示序列的氨基酸;和重链可
变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 116 所示序列的氨基酸。在某些实施例中,单结构域抗
体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合,该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含:
20 重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 118 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其
包含具有 SEQ ID NO: 119 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO:
120 所示序列的氨基酸。在某些实施例中,单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉
竞争与 TIGIT 结合,该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ
ID NO: 122 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 123 所示序列的
25 氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 124 所示序列的氨基酸。在某些实施
例中,单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合,该参考抗 TIGIT
单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 126 所示序列的氨基酸;重
链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 127 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其
包含具有 SEQ ID NO: 128 所示序列的氨基酸。在某些实施例中,单结构域抗体与参考抗 TIGIT
30 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合,该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,
其包含具有 SEQ ID NO: 130 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO:
131 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 132 所示序列的氨基
酸。在某些实施例中,单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合,
该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 134 所示序
35 列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 135 所示序列的氨基酸;和重链可

列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 175 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 176 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 178 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 179 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 180 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 182 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 183 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 184 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 186 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 187 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 188 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 190 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 191 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 192 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：a) 重链可变区 CDR1，该重链可变区 CDR1 包含 SEQ ID NO: 94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、146、150、154、158、162、166、170、174、178、182、186 和 190 中任何一个的氨基酸序列，或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体；b) 重链可变区 CDR2，该重链可变区 CDR2 包含 SEQ ID NO: 95、99、103、107、111、115、119、123、127、131、135、139、143、147、151、155、159、163、167、171、175、179、183、187 和 191 中任何一个的氨基酸序列，或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体；以及 c) 重链可变区 CDR3，该重链可变区 CDR3 包含 SEQ ID NO: 96、100、104、108、112、116、120、124、128、132、136、140、144、148、152、156、160、164、168、172、176、180、184、188 和 192 中任何一个的氨基酸序列，或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域，其中该 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域分别含有包含在参考重链可变区中的 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域，该参考重链可变区包含选自 SEQ ID NO: 97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161、165、169、173、177、181、185、189 和 193 组成的组的氨基酸序列。

在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 94 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 95 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 96 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结

包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 150 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 151 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 152 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 154 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 155 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 156 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 158 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 159 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 160 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 162 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 163 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 164 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 166 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 167 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 168 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 170 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 171 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 172 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 174 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 175 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 176 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 178 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 179 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 180 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 182 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 183 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 184 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 186 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 187 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 188 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 190 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 191 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 192 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含与选自 SEQ ID NO: 97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161、165、169、173、177、181、185、189 和 193 组成的组的氨基酸序列具有至少约 90% 序列同一性的氨基酸序列。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 97 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID

所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 51 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 53 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 54 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 55 所示序列的氨基酸。

5 在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 57 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 58 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 59 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 61 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 62

10 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 63 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 65 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 66 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 67 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，

15 其包含具有 SEQ ID NO: 69 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 70 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 71 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 73 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 74 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 75 所示序列的氨基酸。

20 在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 77 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 78 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 79 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 81 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 82

25 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 83 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含与选自由 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、80 和 84 组成的组的氨基酸序列具有至少约 90% 序列同一性的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含选自由 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24、28、

30 32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、80 和 84 组成的组的氨基酸序列。

在某些实施例中，单结构域抗体包含人源化框架。

在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体包含 Fc 区。在某些实施例中，Fc 区包含人 Fc 区。在某些实施例中，Fc 区包含选自下组的 Fc 区，该组由以下组成：IgG、IgA、IgD、IgE 和 IgM 的 Fc 区。在某些实施例中，Fc 区包含选自下组的 Fc 区，该组由以下组成：IgG1、IgG2、IgG3

35 和 IgG4 的 Fc 区。在某些实施例中，Fc 区包含 IgG1 Fc 区。在某些实施例中，IgG1 Fc 区包

含一种或多种增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 的突变。在某些实施例中, IgG1 Fc 区包含 L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L 的突变。在某些实施例中, IgG1 Fc 区包含 S239D、A330L 和 I332E 的突变。在某些实施例中, 抗 TIGIT 抗体包含 SEQ ID NO: 194 所示的氨基酸序列。

5 在某些实施例中, 重链可变区通过接头连接至 Fc 区。在某些实施例中, 接头是肽接头。在某些实施例中, 肽接头包含约 4 至约 30 个氨基酸。在某些实施例中, 肽接头包含约 4 至约 15 个氨基酸。在某些实施例中, 肽接头包含选自由 SEQ ID NO: 195-220 组成的组的氨基酸序列。

在某些实施例中, 该抗 TIGIT 抗体包含多特异性抗体, 例如双特异性抗体, 全长免疫球
10 蛋白, 单链 Fv(scFv)片段, Fab 片段, Fab'片段, F(ab')₂, Fv 片段, 二硫键稳定的 Fv 片段(dsFv), (dsFv)₂, VHH, Fv-Fc 融合物, scFv-Fc 融合物, scFv-Fv 融合物, 双抗体, 三抗体, 四抗体或任何它们的组合。

在某些实施例中, 抗 TIGIT 抗体包含多特异性抗体 (例如双特异性抗体), 其包含特异性
15 结合第二抗原的第二抗体部分。在某些实施例中, 第二抗原是肿瘤相关抗原。在某些实施例中, 肿瘤相关抗原选自下组, 该组由以下组成: Her-2, EGFR, PD-L1, c-Met, B 细胞成熟抗原 (BCMA), 碳酸酐酶 IX (CA1X), 癌胚抗原 (CEA), CD5, CD7, CD10, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD34, CD38, CD41, CD44, CD49f, CD56, CD74, CD123, CD133, CD138, CD276 (B7H3), 上皮糖蛋白 (EGP2), 滋养层细胞表面抗原 2 (TROP-2), 上皮糖蛋白-40 (EGP-40), 上皮细胞粘附分子 (EpCAM), 受体酪氨酸蛋白激酶 erb-B2、3、4, 叶酸结合蛋白 (FBP), 胎儿乙酰胆碱受体 (AChR), 叶酸受体-a, 神经节苷脂 G2 (GD2), 神经节苷脂 G3 (GD3), 人端粒酶逆转录酶 (hTERT), 激酶插入结构域受体 (KDR), Lewis A (CA 1.9.9), Lewis Y (LeY), 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3), L1 细胞粘附分子 (L1CAM), 粘蛋白 16 (Muc-16), 粘蛋白 1 (Muc-1), NG2D 配体, 癌胚抗原 (h5T4), 前列腺干细胞抗原 (PSCA), 前列腺特异性膜抗原 (PSMA), 肿瘤相关糖蛋白 72 (TAG-72), 密封蛋白 18.2
20 (CLDN18.2), 血管内皮生长因子 R2 (VEGF-R2), 肾母细胞瘤蛋白 (WT-1), 1 型酪氨酸蛋白激酶跨膜受体 (ROR1) 及其任何组合。

在某些实施例中, 第二抗原是免疫检查点调节剂。在某些实施例中, 免疫检查点调节剂
25 选自由以下组成的组: PD1、CTLA4、LAG-3、2B4、BTLA 及其任何组合。

在某些实施例中, 抗 TIGIT 抗体缀合至治疗剂或标记。在某些实施例中, 标记选自下组,
30 该组由以下组成: 放射性同位素、荧光染料和酶。

本公开进一步提供了与治疗剂连接的、包含本文公开的任何抗体的免疫缀合物。在某些
实施例中, 治疗剂是细胞毒素。在某些实施例中, 治疗剂是放射性同位素。

本公开进一步提供了药物组合物。在某些实施例中, 药物组合物包含 a) 本文公开的抗体
或免疫缀合物, 和 b) 药学上可接受的载剂。

本公开进一步提供了编码本文公开的任何抗体的核酸。本公开进一步提供了包含本文公开的任何核酸的载体。本公开进一步提供了包含本文公开的核酸或载体的宿主细胞。

本公开进一步提供了用于制备本文公开的抗体的方法。在某些实施例中，该方法包括在本文公开的宿主细胞中表达抗体，并从宿主细胞分离抗体。

5 本公开进一步提供了减轻受试者的肿瘤负荷的方法。在某些实施例中，该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的抗体、免疫缀合物或药物组合物。

在某些实施例中，该方法减少肿瘤细胞的数量。在某些实施例中，该方法减小肿瘤大小。在某些实施例中，该方法根除受试者的肿瘤。在某些实施例中，肿瘤选自以下组成的组：间皮瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、胸膜肿瘤、成胶质细胞瘤、食道癌、胃癌、滑膜肉瘤、胸腺癌、子宫内膜癌、胃肿瘤、胆管癌、头颈癌、血液癌及其组合。

10 本公开进一步提供了治疗和/或预防受试者的赘生物的方法。在某些实施例中，该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的抗体、免疫缀合物或药物组合物。

本公开进一步提供了延长患有赘生物的受试者的存活期的方法。在某些实施例中，该方法包括向受试者施用有效量的本文公开的抗体、免疫缀合物或药物组合物。

15 在某些实施例中，赘生物选自以下组成的组：间皮瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、胸膜肿瘤、成胶质细胞瘤、食道癌、胃癌、滑膜肉瘤、胸腺癌、子宫内膜癌、胃肿瘤、胆管癌、头颈癌、血液癌及其组合。

本公开进一步提供了本文公开的用作药物的任何抗体。本公开进一步提供了本文公开的用于治疗癌症的任何抗体。本公开进一步提供了本文公开的用作药物的药物组合物。本公开进一步提供了本文公开的用于治疗癌症的药物组合物。在某些实施例中，癌症选自以下组成的组：间皮瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、胸膜肿瘤、成胶质细胞瘤、食道癌、胃癌、滑膜肉瘤、胸腺癌、子宫内膜癌、胃肿瘤、胆管癌、头颈癌、血液癌及其组合。

20 本公开进一步提供了试剂盒，其包含本文公开的抗体、免疫缀合物、药物组合物、核酸、载体或宿主细胞。在某些实施例中，试剂盒包含用于治疗 and/或预防赘生物的书面的说明书。

25

附图说明

图 1A-1C 描绘了通过流式细胞术测定确定的代表性 VHH 二价抗体与人 TIGIT 的全细胞结合。图 1A 显示了与一种参考抗人 TIGIT 抗体（参考 Ab1）相比的一种测定。图 1B 显示了使用其他 VHH 抗体的不同测定。Y 轴表示 AlexaFlour 488 的平均荧光强度。X 轴表示以纳摩尔计的抗体浓度。2B7、1G1、1C12、3G6、2B10、3G7、3G10、13H11 和 15A5 是抗人 TIGIT 的 VHH 克隆。使用 Prism 的非线性回归方法获得 EC50 值，并且在表中以纳摩尔表示这些值。图 1C 是 TIGIT VHH 二价抗体的结构示意图。

30 图 2A-2B 描绘了代表性二价抗体在阻断 TIGIT 活性中的功效，该活性由萤光素酶报告基因测定确定。在代表性抗 TIGIT 二价抗体和低浓度葡萄球菌肠毒素存在下，将人 TIGIT 和 NFAT 报告基因稳定转染的 Jurkat 细胞与 PVR（CD155）稳定转染的 Raji 细胞共培养。Y 轴

35

以相对发光单位表示 NFAT 萤光素酶活性。X 轴表示以纳摩尔计的抗体浓度。参考 Ab1 是参考抗 h-TIGIT 抗体。2B7、1G1、1C12、3G6、2B10、3G7 和 3F10 是抗 h-TIGIT 的代表性克隆。使用 Prism 的非线性回归方法获得 EC50 值，并且在表中以纳摩尔表示这些值。

图 3A 和 3B 描绘了通过流式细胞术测定确定的人源化 1C12 和 1G1 克隆与人 TIGIT 的全细胞结合。1C12 人源化形式的代表性结果如图 3A 所示。1C12 嵌合抗体是具有 1C12 克隆的 Llama VHH 序列以及人 IgG1 的 CH2 和 CH3 结构域的抗体，1C12(F-EREF)、1C12(F-EREW) 和 1C12 (F-GLEW) 是 1C12 克隆的人源化形式，差异为框架 2 中的突变。1G1 人源化形式的代表性结果如图 3B 所示。1G1 嵌合抗体是具有 1G1 克隆的 Llama VHH 序列以及人 IgG1 的 CH2 和 CH3 结构域的抗体。1G1 (F-G-ERES)、1G1 (F-A-ERES)、1G1 (F-A-EREW) 和 1G1 (F-A-GLEW) 是框架 2 中具有不同突变的人源化 1G1 克隆的四种不同形式。Y 轴是 AlexaFlour 488 的平均荧光强度值。X 轴是以纳摩尔计的抗体浓度的值。

图 4A 和 4B 描述了人源化的 1C12 和 1G1 克隆在阻断 TIGIT 活性中的功效，该活性由萤光素酶报告基因测定确定。TIGIT 阻断萤光素酶报告基因测定中 1C12 人源化形式的代表性结果如图 4A 所示。与参考抗 h-TIGIT 抗体参考 Ab1 相比，所有克隆更有效。1G1 人源化形式的代表性结果如图 4B 所示。Y 轴代表 NFAT 萤光素酶活性 (RLU, 相对发光单位)。X 轴表示以纳摩尔计的抗体浓度。

图 5 描绘了针对代表性克隆的来自阻断 ELISA 的 IC50 值 (以纳摩尔计) 和来自全细胞结合的 EC50 值 (以纳摩尔计) 之间的相关性。克隆名称在图中进行了标记。使用 GraphPad Prism 分析相关性。

图 6A 和 6B 描绘了针对代表性克隆测试的热稳定性。将 VHH 抗体样品从 25 加热到 70°C 持续 60 分钟。使用 ELISA 或全细胞结合检查加热的样品与人 TIGIT 的结合。图 6A 显示了在 ELISA 测定中代表性克隆的加热样品与 h-TIGIT ECD 的结合，其中在图例中标记了克隆名称。Y 轴代表由 ELISA 测定法获得的 OD450。X 轴代表处理温度。图 6B 显示了代表性克隆的加热样品与通过流式细胞术确定的在 Jurkat 细胞中稳定表达的 h-TIGIT 的结合。Y 轴代表与 h-TIGIT 结合的百分比。X 轴代表处理温度。

图 7A-7C 描绘了通过使用 ForteBio 的 Octet 结合测定法确定的 2A3-Fc 与人 TIGIT 结合的表位。将带有 his 标签的人 TIGIT ECD (200 nM) 的重组蛋白加载到传感器上。通过注射三种不同浓度的 2A3-Fc 检测结合。通过第二次注射图 7A 中所示的 2A3-Fc 未检测到额外的结合，但是通过注射三种不同浓度的参考 Ab2，一种参考抗 TIGIT 抗体 (如图 7B 中所示)，或参考 Ab1 (如图 7C 中所示)，检测到强结合。结果表明，与参考 Ab2 和参考 Ab1 相比，2A3 克隆具有不同的结合表位。

图 8A-8C 描绘了通过 ELISA 测定法确定的 2A3-Fc 对人-、食蟹猴-和小鼠-TIGIT 的交叉结合活性。图 8A 显示了 2A3-Fc 与重组人 TIGIT ECD 的结合。参考 Ab2 是一种抗人 TIGIT 参考抗体。2A3-Fc 和参考 Ab2 都以相似的亲和力与 h-TIGIT 结合。抗 PDL1 不与 h-TIGIT 结合。图 8B 显示了 2A3-Fc 与重组 cyno-TIGIT 的结合。2A3-Fc 和参考 Ab2 都以相似的亲和力

与 cyno-TIGIT 结合。抗 PDL1 不与 cyno-TIGIT 结合。图 8C 显示了 2A3-Fc 与重组小鼠 TIGIT 的结合。2A3-Fc 和参考 Ab2 均未与小鼠 TIGIT 结合，但是抗小鼠 TIGIT 参考抗体（博奇公司 (Biolegend) # 142101）与小鼠 TIGIT 以高亲和力结合。Y 轴代表 OD450, X 轴代表以 $\mu\text{g/ml}$ 计的抗体浓度。

5 图 9 描绘了在全细胞结合测定和人 TIGIT 阻断报告基因测定中代表性克隆 2A3-Fc 和热点校正形式的 2A3-LT-Fc 的效力的比较。Y 轴在上图中代表平均荧光强度，在下图中代表以相对发光单位计的 NFAT 萤光素酶报告基因活性。X 轴表示以纳摩尔计的抗体浓度。热点校正形式 2A3-LT-Fc 具有与亲本克隆 2A3-Fc 相似的效力。

10 图 10A 和 10B 描绘了热点校正形式 2A3-LT-Fc 与参考抗-h-TIGIT 抗体参考 Ab2 的亲力的比较。图 10A 显示了在全细胞结合中热点校正形式 2A3-LT-Fc 与参考 Ab2 的效力的比较。Y 轴代表通过使用 CytoFlex 的流式细胞术测定法确定的 AlexaFlour 488 的平均荧光强度。X 轴表示以纳摩尔计的抗体浓度。显示的数据是来自三个不同实验的代表性结果。2A3-LT-Fc 与 h-TIGIT 的亲和力比与参考 Ab2 的亲和力略高。图 10B 显示了在 TIGIT 阻断 NFAT 报告基因测定中，热点校正形式 2A3-LT-Fc 与参考 Ab2 的效力的比较。Y 轴代表以相对发光单位计的 NFAT 萤光素酶报告基因活性。X 轴表示以纳摩尔计的抗体浓度。2A3-LT-Fc 具有与参考 Ab2 相似的效力。

图 11 描绘了 2A3-LT-Fc 体外抗肿瘤效力。在混合淋巴细胞反应试验使用了 TIGIT+ T 细胞和 PVR+ 树突细胞(DCs)。48 小时混合培养后检测了培养上清中 T 细胞 IL-2 的分泌。抗 PD1 抗体被用作正对照。抗 HER2 抗体被用作负对照。

20 图 12 描绘了使用 Octet 结合测定法确定的 2A3-LT-Fc 野生型 (wt) 和 Fc 突变 (DLE 和 VLPLL) 与人 Fc γ RIIIA、人 Fc γ RIIB 和小鼠 Fc γ RIV 的结合。传感器加载有 Fc γ RIIIA、人 Fc γ RIIB 和小鼠 Fc γ RIV 的 ECD 重组蛋白，使用 ForteBio 检测到 5 种不同浓度的 2A3-LT-Fc wt、DLE 或 VLPLL 突变体的缔合和解离。Y 轴表示缔合、解离和 Rmax。X 轴表示以秒计的时间。与野生型相比，DLE 和 VLPLL 突变体均具有增强的与人 Fc γ RIIIA 的结合亲和力，DLE 突变体也具有增强的与人 Fc γ RIIB 的结合亲和力，但是 VLPLL 突变体降低了与人 Fc γ RIIB 的结合亲和力。所有形式都具有与小鼠 Fc γ RIV 相似的亲和力。

30 图 13A 和 13B 分别描绘了 TIGIT mAb 2A3-LT-Fc wt、DLE 突变体对阻断 TIGIT 活性和人 Fc γ RIIIA 介导的活性的影响。图 13A 描绘了使用 NFAT 萤光素酶报告基因测定法确定的 TIGIT mAb 2A3-LT-Fc wt、DLE 突变体对阻断 TIGIT 活性的影响。将经人 TIGIT 和 NFAT 报告基因稳定转染的 Jurkat 细胞与经 PVR 稳定转染的 Raji 细胞共培养。加入 2A3-LT-Fc wt 和突变体并培养 5 小时。通过萤光素酶活性来测量 TCR 介导的活性。Y 轴以相对发光单位表示 NFAT 萤光素酶活性。X 轴表示以纳摩尔计的抗体浓度。图 13B 描述了 TIGIT mAb 2A3-LT-Fc wt、DLE 突变体对人 Fc γ RIIIA 介导的活性的影响，该活性由 Fc γ RIIIA 介导的 NFAT 萤光素酶报告基因活性确定。在不同浓度的 2A3-LT-Fc wt、DLE 突变体存在下，将人 Fc γ RIIIA 和 NFAT 稳定转染的 Jurkat 细胞与人 TIGIT 稳定转染的 293T 细胞共培养 5 小时。测量萤光素酶

活性，并在 Y 轴上以相对发光单位表示。X 轴表示以纳摩尔计的抗体浓度。

图 14A-14C 描绘了对抗 TIGIT 抗体的体内有效性分析。使用了人 TIGIT 敲入 C57BL/6 小鼠和 MC38 鼠结肠癌模型。在治疗前一周给小鼠接种了 MC38 肿瘤细胞。当平均肿瘤大小达到约 51 mm^3 时治疗开始，在腹膜内一周两次给药，持续 2.5 周。2A3-LT-Fc 抗体每次 6mg/kg 或参考 Ab2 每次 11mg/kg(与 2A3-LT-Fc 抗体在 mole/kg 上等同)。图 14A 描绘了用空白对照，2A3-Fc-wt，有 DLE 突变的 2A3-Fc 和参考 Ab 2 给药的长有肿瘤的小鼠的肿瘤生长曲线。单个肿瘤体积的结果显示在图 14B 中。图 14C 显示了在研究中各实验组的体重变化并不显著。

具体实施方式

10 本公开提供了以高亲和力特异性结合 TIGIT 的分离的单克隆抗体，其包括结合 TIGIT 和一种或多种另外的靶标的多特异性抗体。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体包含与 TIGIT 结合的单结构域抗体。本公开进一步提供了制备抗体、免疫缀合物和包含这些抗体的药物组合物的方法，以及使用抗体、免疫缀合物和包含这些抗体的药物组合物例如用于治疗疾病和病症（例如癌症）的方法。本发明部分地基于发现与 TIGIT 结合的单结构域抗 TIGIT 抗体，这些
15 抗体可以增加免疫细胞中的免疫应答并提供改善的抗肿瘤功效。

为了清楚起见而不是作为限制，目前公开的主题的具体实施方式分为以下小节：

1. 定义；
2. 抗体；
3. 使用方法；
- 20 4. 药物配制品；以及
5. 制品。

1. 定义

本文中术语“抗体”以最广泛的含义使用，并且涵盖多种抗体结构，这些抗体结构包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体（例如，双特异性抗体）、单结构域抗体和
25 抗体片段，只要它们表现出所需的抗原结合活性即可。

“抗体片段”是指包含完整的全长抗体的抗原结合部分的分子，该完整的全长抗体结合与完整的抗体结合的抗原。抗体片段的实例包括但不限于 Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、双抗体、线性抗体、单链抗体分子（例如，scFv）、由抗体片段形成的多特异性抗体、单结构域抗体、VHH 纳米抗体、结构域抗体、二价结构域抗体或与抗原结合的抗体的任何其他片段。

30 “VHH”是指从骆驼科动物中分离的单结构域抗体。在某些实施例中，VHH 包含骆驼重链抗体的重链可变区。在某些实施例中，VHH 的大小不超过 25kDa。在某些实施例中，VHH 的大小不超过 20kDa。在某些实施例中，VHH 的大小不超过 15kDa。

“全长抗体”是指包含两条重链和两条轻链的抗体。轻链和重链的可变区对抗原结合负责。重链和轻链的可变区可以分别称为“VH”和“VL”。两条链中的可变区通常包含三个高度可变的环，称为互补决定区（CDR）（包括 LC-CDR1、LC-CDR2 和 LC-CDR3 的轻链（LC）
35

CDR, 包括 HC-CDR1、HC-CDR2 和 HC-CDR3 的重链 (HC) CDR)。本文公开的抗体和抗原结合片段的 CDR 边界可以通过公知的惯例来定义或鉴定, 例如, Kabat、Chothia 或 Al-Lazikani 的惯例 (Al-Lazikani 1997; Chothia 1985; Chothia 1987; Chothia 1989; Kabat 1987; Kabat 1991)。重链或轻链的三个 CDR 被插入称为框架区 (FR) 的侧翼区段之间, 它们比 CDR 5 更为保守, 并形成了支持高变环的支架。重链和轻链的恒定区不参与抗原结合, 但是表现出多种效应子功能。根据抗体重链恒定区的氨基酸序列将抗体分类。抗体的五种主要类别或同种型是 IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM, 分别以存在 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 重链为特征。几种主要抗体类别分为亚类, 例如 IgG1 (γ 1 重链)、IgG2 (γ 2 重链)、IgG3 (γ 3 重链)、IgG4 (γ 4 重链)、IgA1 (α 1 重链) 或 IgA2 (α 2 重链)。

10 与参考抗体“交叉竞争结合的抗体”是指在竞争测定中阻断参考抗体与其抗原的结合达 50%以上的抗体, 相反, 在竞争测定中参考抗体阻断抗体与其抗原的结合达 50%以上。在 Antibodies [抗体], Harlow 和 Lane(冷泉港出版社, 冷泉港, 纽约(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY)) 中描述了示例性竞争测定法。

“Fv”是最小抗体片段, 其含有完整抗原识别位点和抗原结合位点。该片段由紧密非共价缔合的一个重链可变区和一个轻链可变区的二聚体组成。从这两个结构域的折叠中发出六个高变环(重链和轻链各自中的 3 个环), 该高变环贡献用于抗原结合的氨基酸残基并赋予抗体与抗原结合特异性。然而, 甚至单个可变结构域(或仅包含三个对抗原有特异性的 CDR 的半个 Fv) 可以识别并结合抗原, 虽然有时以比完整结合位点更低的亲和力进行。

20 “单链 Fv”(也缩写为“sFv”或“scFv”)是包含连接成单个多肽链的 V_H 和 V_L 抗体结构域的抗体片段。在一些实施例中, scFv 多肽进一步包含在 V_H 和 V_L 结构域之间的一种多肽接头, 该多肽接头使得 scFv 形成所希望的用于抗原结合的结构。关于 scFv 的综述, 参见 Plückthun 的 The Pharmacology of Monoclonal Antibodies [单克隆抗体的药理学], 第 113 卷, Rosenberg 和 Moore 编辑 Springer-Verlag [施普林格出版社], 纽约, 第 269-315 页 (1994)。

出于本文的目的, “受体人框架”或“人框架”是包含源自人免疫球蛋白框架或人共有框架的轻链可变结构域 (VL) 框架或重链可变结构域 (VH) 框架的氨基酸序列的框架。“源自”人免疫球蛋白框架或人共有框架的受体人框架可以包含其相同的氨基酸序列, 或者可以包含氨基酸序列变化。在某些实施例中, 氨基酸变化的数目是 10 个或更少、9 个或更少、8 个或更少、7 个或更少、6 个或更少、5 个或更少、4 个或更少、3 个或更少、或 2 个或更少。在某些实施例中, VL 受体人框架与 VL 人免疫球蛋白框架序列或人共有框架序列在序列方面是 30 相同的。

“亲和力”是指分子(例如, 抗体)的单个结合部位与其结合配偶体(例如, 抗原)之间非共价相互作用的总和的强度。除非另外指明, 如本文所用, “结合亲和力”是指内部结合亲和力, 其反映出结合对(例如, 抗体与抗原)的成员之间 1:1 相互作用。分子 X 对其配偶体 Y 的亲和力通常可以由解离常数 (KD) 表示。亲和力可以通过本领域已知的常规方法(包括本文所述的那些)测量。下面描述了用于测量结合亲和力的具体说明性和示例性实施例。

“亲和力成熟的”抗体是指与不具有这种改变的亲本抗体相比，在一个或多个 CDR 或高变区 (HVR) 中具有一个或多个改变的抗体，该改变提供了抗体对抗原的改善的亲和力。

如本文所用，“具有 Ig 和 ITIM 结构域的 T 细胞免疫受体”或“TIGIT”是指来自任何脊椎动物来源（包括哺乳动物（例如灵长类动物（例如人和食蟹猴））的任何天然 TIGIT 多肽、或其任何片段，并且可以任选地包含至多一个、至多两个、至多三个、至多四个、至多五个、至多六个、至多七个、至多八个、至多九个或至多十个氨基酸取代、添加和/或缺失。该术语涵盖全长未处理的 TIGIT 以及由于在细胞中进行处理而产生的任何形式的 TIGIT。该术语还涵盖 TIGIT 的天然存在的变体，例如剪接变体或等位基因变体。本公开的抗 TIGIT 抗体靶向的人 TIGIT 氨基酸序列的非限制性实例如下：

10 1 MRWCLLLIWA QGLRQAPLAS GMMTGTIETT GNISAEKGGGS IILQCHLSST
TAQVTQVNWE
 61 QQDQLLAICN ADLGWHISPS FKDRVAPGPG LGLTLQSLTV NDTGEYFCIY
HTYDPDGTYTG
 121 RIFLEVLESS VAEHGARFQI PLLGAMAATL VVICTAVIVV VALTRKKKAL
15 RIHSVEGDLR
 181 RKSAGQEEWS PSAPSPPGSC VQAEAAPAGL CGEQRGEDCA ELHDYFNVLS
YRSLGNCSEFF
 241 TETG [SEQ ID NO: 221]。

术语“TIGIT 的 ECD”是指 TIGIT 的细胞外结构域。例如，SEQ ID NO: 221 所示的示例性 TIGIT 蛋白的 ECD 包含以下氨基酸序列：

20 MRWCLLLIWA QGLRQAPLAS GMMTGTIETT GNISAEKGGGS IILQCHLSST
TAQVTQVNWE
 QQDQLLAICN ADLGWHISPS FKDRVAPGPG LGLTLQSLTV NDTGEYFCIY
HTYDPDGTYTG
25 RIFLEVLESS VAEHGARF [SEQ ID NO: 222]。

术语“抗 TIGIT 抗体”和“结合 TIGIT 的抗体”是指能够以足够的亲和力结合 TIGIT 的抗体，使得该抗体可用作靶向 TIGIT 的诊断剂和/或治疗剂。在一个实施例中，与无关的、非 TIGIT 蛋白的抗 TIGIT 抗体的结合程度小于该抗体与 TIGIT 结合的约 10%，例如通过 BIACORE[®]表面等离子体共振测定法所测量的。在某些实施例中，与 TIGIT 结合的抗体具有以下解离常数 (KD) <约 1 μM, <约 100 nM, <约 10 nM, <约 1 nM, <约 0.1 nM, <约 0.01 nM 或 <约 0.001 nM (例如 10⁻⁸ M 或更小, 例如 10⁻⁸ M 至 10⁻¹² M, 例如 10⁻⁹ M 至 10⁻¹⁰ M)。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体结合来自不同物种的 TIGIT 中保守的 TIGIT 表位。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体结合在蛋白质的 ECD 中的 TIGIT 上的表位。

术语“嵌合”抗体是指这样的抗体，其中重链和/或轻链的一部分源自特定来源或物种，而重链和/或轻链的其余部分源自不同来源或物种。在某些实施例中，本文公开的嵌合抗体包

含骆驼科动物重链可变区和人 Fc 区。

如本文所用，术语“CDR”或“互补决定区”是指重链和/或轻链的可变区内的非连续抗原结合位点。这些特定区已经描述于：Kabat 等人, J. Biol. Chem.[生物化学杂志], 252:6609-6616 (1977); Kabat 等人, 美国卫生与公共服务部, “Sequences of proteins of immunological interest [具有免疫学意义的蛋白质序列]” (1991); Chothia 等人, J. Mol. Biol. [分子生物学杂志] 196:901-917 (1987); Al-Lazikani B.等人, J. Mol. Biol.[分子生物学杂志], 273: 927-948 (1997); MacCallum 等人, J. Mol. Biol.[分子生物学杂志] 262:732-745 (1996); Abhinandan 和 Martin, Mol. Immunol.[分子免疫学], 45: 3832-3839 (2008); Lefranc M.P.等人, Dev. Comp.Immunol.[发展与比较免疫学], 27: 55-77 (2003); 以及 Honegger 和 Plückthun, J. Mol. Biol.[分子生物学杂志], 309:657-670 (2001), 其中定义包括当彼此比较时氨基酸残基的重叠或子集。然而, 应用任一定义来指代抗体或移植的抗体或其变体的 CDR 旨在落入如本文定义和使用的术语的范围内。涵盖如上述每篇参考文献定义的 CDR 的氨基酸残基列于下表 1 中作为比较。CDR 预测算法和接口是本领域已知的, 包括例如 Abhinandan 和 Martin, Mol. Immunol.[分子免疫学], 45: 3832-3839 (2008); Ehrenmann F.等人, Nucleic Acids Res.[核酸研究], 38: D301-D307 (2010); 和 Adolf-Bryfogle J.等人, Nucleic Acids Res.[核酸研究], 43: D432-D438 (2015)。在本段中引用的参考文献的内容通过引用以其整体并入本文, 以用于本申请中并且可能包含在本文的一项或多项权利要求中。

表 1: CDR 定义

	Kabat¹	Chothia²	MacCallum³	IMGT⁴	AHo⁵
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

¹ 残基编号遵循 Kabat 等人的命名法 (同上)。

² 残基编号遵循 Chothia 等人的命名法 (同上)。

³ 残基编号遵循 MacCallum 等人的命名法 (同上)。

⁴ 残基编号遵循 Lefranc 等人的命名法 (同上)。

⁵ 残基编号遵循 Honegger 和 Plückthun 的命名法 (同上)。

表述“如 Kabat 中的可变结构域残基编号”或“如 Kabat 中的氨基酸位置编号”及其变体是指用于上文 Kabat 等人的抗体汇编的重链可变结构域或轻链可变结构域的编号系统。使用这个编号系统, 实际直链氨基酸序列可以含有对应于可变结构域的 FR 或 CDR 的缩短或插入的更少的或另外的氨基酸。例如, 重链可变结构域可以包含在 H2 的残基 52 之后的单个氨基酸插入 (根据 Kabat 的残基 52a) 以及在重链 FR 残基 82 之后的插入残基 (例如, 根据 Kabat

的残基 82a、82b 和 82c 等)。可以通过在抗体序列与“标准”Kabat 编号序列的同源性区域进行比对来确定给定抗体的残基的 Kabat 编号。

在某些实施例中，涵盖单结构域抗体（例如，本文公开的单结构域抗 TIGIT 抗体）的 CDR 的氨基酸残基是根据上文 Lefranc 等人的 IMGT 命名法定义的。在某些实施例中，涵盖全长抗体的 CDR 的氨基酸残基是根据上文 Kabat 等人的 Kabat 命名法定义的。在某些实施例中，免疫球蛋白重链例如 Fc 区中的残基编号是如上文 Kabat 等人所述的 EU 索引的编号。“如 Kabat 所述的 EU 索引”是指人 IgG1 EU 抗体的残基编号。

“框架”或“FR”是指除了本文定义的 CDR 残基以外的那些可变结构域残基。

“人源化”抗体是指包含来自非人 CDR/HVR 的氨基酸残基和来自人 FR 的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施例中，人源化抗体将包括基本上至少一个、并且典型地两个可变结构域的全部，其中 HVR/CDR 的全部或基本上全部对应于非人类抗体的那些，并且 FR 的全部或基本上全部对应于人类抗体的那些。人源化抗体可任选地包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。抗体（例如非人抗体）的“人源化形式”是指已经人源化的抗体。

“人抗体”是具有氨基酸序列的抗体，该氨基酸序列对应于由人产生的抗体的氨基酸序列和/或已经使用本文公开的任何用于制备人抗体的技术制备。人抗体的此定义特别排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。可以使用本领域已知的各种技术（包括噬菌体展示文库）产生人抗体。Hoogenboom 和 Winter, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志], 227:381 (1991); Marks 等人, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志], 222:581 (1991)。也可用于制备人单克隆抗体的是在 Cole 等人, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy* [单克隆抗体和癌症疗法], Alan R. Liss, 第 77 页 (1985); Boerner 等人, *J. Immunol.* [免疫学杂志], 147(1):86-95 (1991) 中描述的方法。另请参见 van Dijk 和 van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* [药理学新见], 5: 368-74 (2001)。人抗体可以通过将抗原施用至已被修饰以响应抗原攻击而产生这种抗体但其内源基因座已失效的转基因动物（例如已免疫的 xenomice）来制备（参见，例如，有关 XENOMOUSE™ 技术的美国专利号 6,075,181 和 6,150,584）。关于通过人 B 细胞杂交瘤技术产生的人抗体，还参见例如 Li 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* [美国国家科学院院刊] 103:3557-3562 (2006)。

将“关于本文鉴定的多肽和抗体序列的氨基酸序列同一性百分比(%)”或“同源性”定义为在对齐序列（考虑任何保守取代作为序列同一性的一部分）后，候选序列中与所比较多肽中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。出于确定氨基酸序列同一性百分比的目的，可以用本领域技术中的多种方式来实现比对，例如使用公众可得的计算机软件，例如 BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR) 或 MUSCLE 软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的适当参数，包括需要在被比较序列的全长范围实现最大比对的任何算法。然而，出于本文的目的，使用序列比较计算机程序 MUSCLE 生成氨基酸序列同一性%值(Edgar, R.C., *Nucleic Acids Research* [核酸研究] 32(5):1792-1797, 2004; Edgar, R.C., *BMC Bioinformatics* [BMC 生物信息学] 5(1):113, 2004)。

“同源的”是指两个多肽之间或两个核酸分子之间的序列相似性或序列同一性。当两个

比较序列中两个的一个位置被相同的碱基或氨基酸单体亚基占据时，例如，如果两个 DNA 分子中的每一个的一个位置被腺嘌呤占据，则该分子在该位置是同源的。两个序列之间的同源性百分比是两个序列共享的匹配或同源位置数除以比较的位置数乘以 100 的函数。例如，如果两个序列中 10 个位置中的 6 个是匹配或同源的，那么两个序列是 60%同源的。举例来说，DNA 序列 ATTGCC 和 TATGGC 具有 50%的同源性。通常，当两个序列比对以给出最大同源性时进行比较。

术语“恒定结构域”是指免疫球蛋白分子的一部分，其相对于免疫球蛋白的另一部分，即可变结构域，具有更保守的氨基酸序列，其包含抗原结合位点。恒定结构域包含重链的 C_{H1}、C_{H2} 和 C_{H3} 结构域（统称为 C_H）和轻链的 C_L 结构域。

任何哺乳动物物种的抗体（例如免疫球蛋白）的“轻链”都可以根据其恒定结构域的氨基酸序列指定为两种明显不同的类型之一，分别称为 kappa (“κ”) 和 lambda (“λ”)。

“CH1 结构域”（也称为“H1”结构域的“C1”）通常从约氨基酸 118 至约氨基酸 215（EU 编号系统）。

“铰链区”通常定义为 IgG 中对应于人 IgG1 的 Glu216 至 Pro230 的区域（Burton, Molec.Immunol.[分子免疫学]22:161-206 (1985)）。其他 IgG 同种型的铰链区可以通过将第一个和最后一个形成重链间 S-S 键的半胱氨酸残基置于相同位置而与 IgG1 序列比对。

人 IgG Fc 区（也称为“C2”结构域）的“CH2 结构域”通常从约氨基酸 231 至约氨基酸 340。CH2 结构域是独特的，因为其不与另一个结构域紧密配对。而是，两个 N 连接的支链碳水化合物链插入完整天然 IgG 分子的两个 CH2 结构域之间。据推测，碳水化合物可以提供结构域-结构域配对的替代物并有助于稳定 CH2 结构域。Burton, Molec Immunol.[分子免疫学], 22:161-206 (1985)。

“CH3 结构域”（也称为“C2”结构域）包含 CH2 结构域与 Fc 区的 C 末端之间的残基（即，从约氨基酸残基 341 到抗体序列的 C 末端），通常在 IgG 的氨基酸残基 446 或 447 处）。

本文中的术语“Fc 区”或“片段可结晶区”用于定义免疫球蛋白重链的 C 末端区域，包括天然序列 Fc 区和变体 Fc 区。尽管免疫球蛋白重链的 Fc 区的边界可以变化，但是通常将人 IgG 重链的 Fc 区定义为从 Cys226 位置处的氨基酸残基或从 Pro230 延伸至其羧基末端。可以例如抗体的生产或纯化期间或通过对编码抗体重链的核酸进行重组工程化来去除 Fc 区的 C 末端赖氨酸（根据 EU 编号系统的残基 447）。因此，完整抗体的组合物可以包括去除了所有 K447 残基的抗体群体，没有去除 K447 残基的抗体群体以及具有带有和不带有 K447 残基的抗体混合物的抗体群体。用于本文所述抗体的合适天然序列 Fc 区包括人 IgG1、IgG2(IgG2A、IgG2B)、IgG3 和 IgG4。

“Fc 受体”或“FcR”描述结合抗体的 Fc 区的受体。优选的 FcR 是天然人 FcR。此外，优选的 FcR 是结合 IgG 抗体（γ 受体）并包括 FcγRI、FcγRII 和 FcγRIII 亚类的受体的 FcR，包括等位基因变体和这些受体的剪接形式，FcγRII 受体包括 FcγRIIA（“活化受体”）和 FcγRIIB（“抑制受体”），它们具有相似的氨基酸序列，主要区别在于其胞质结构域。活化受体 FcγRIIA

在其细胞质结构域中含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序 (ITAM)。抑制性受体 FcγRIIB 在其胞质结构域中包含基于免疫受体酪氨酸的抑制基序 (ITIM)。(参见 M. Daëron, Annu.Rev. Immunol.[免疫学年度评论] 15:203-234 (1997)。FcR 综述于 Ravetch 和 Kinet, Annu.Rev. Immunol.[免疫学年度评论], 9: 457-92 (1991); Capel 等人, Immunomethods [免疫方法] 4: 25-34 (1994); 和 de Haas 等人, J. Lab.Clin. Med.[实验与临床医学杂志] 126: 330-41 (1995)。本文的术语“FcR”涵盖其他 FcR, 包括将来鉴定的 FcR。

如本文所用, 术语“表位”是指抗体或抗原结合部分所结合的抗原上的特定原子或氨基酸基团。如果两个抗体或抗原结合部分对抗原具有竞争性结合, 则它们可以结合抗原内的相同表位。

如本文所用, 术语“特异性结合”、“特异性识别”和“对……有特异性”是指可测量和可再现的相互作用, 例如靶标与抗体或抗体部分之间的结合, 其决定了在异质分子(包括生物分子)群体存在时靶标的存在。例如, 特异性识别靶标(可以是表位)的抗体或抗体部分是与该靶标结合的抗体或抗体部分, 其亲和力、亲合力、就绪性和/或持续时间长于与其他靶标的结合。在一些实施例中, 抗体与不相关靶标的结合程度小于例如通过放射免疫测定法 (RIA) 测量的抗体与靶标的结合程度的约 10%。在一些实施例中, 特异性结合靶标的抗体的解离常数 (K_D) $\leq 10^{-5}$ M、 $\leq 10^{-6}$ M、 $\leq 10^{-7}$ M、 $\leq 10^{-8}$ M、 $\leq 10^{-9}$ M、 $\leq 10^{-10}$ M、 $\leq 10^{-11}$ M、或 $\leq 10^{-12}$ M。在一些实施例中, 抗体特异性结合对从不同物种的蛋白中为保守的蛋白的表位。在一些实施例中, 特异性结合可以包括但不要求排他结合。抗体或抗原结合结构域的结合特异性可以通过本领域已知的方法通过实验确定。这类方法包括但不限于蛋白质印迹、ELISA-、RIA-、ECL-、IRMA-、EIA-、BIAcore™-检验和肽扫描。

“分离的”抗体(或构建体)是已经从其生产环境的组分(例如天然或重组)中鉴定、分离和/或回收的抗体。在某些实施例中, 分离的多肽在其生产环境中没有或基本上没有与其他组分缔合。

编码本文所述的构建体、抗体或其抗原结合片段的“分离的”核酸分子是与在其生产环境中从通常与其相关联的至少一种污染物核酸分子中鉴定并分离的核酸分子。在某些实施例中, 分离的核酸没有或基本没有与生产环境有关的所有组分缔合。编码本文所述的多肽和抗体的分离的核酸分子的形式不同于天然存在的形式或背景。因此, 分离的核酸分子不同于编码天然存在于细胞中的本文所述的多肽和抗体的核酸。分离的核酸包括通常包含核酸分子的细胞中所含的该核酸分子, 但是该核酸分子存在于染色体外或与其天然染色体位置不同的染色体位置。

术语“控制序列”是指在特定宿主生物体中表达可操作地连接的编码序列所必需的 DNA 序列。例如, 适用于原核生物的控制序列包括启动子、任选的操纵子序列和核糖体结合位点。已知真核细胞利用启动子、聚腺苷酸化信号和增强子。

当核酸与另一核酸序列处于功能关系时, 该核酸是“可操作地连接的”。例如, 如果将前序列或分泌性前导序列的 DNA 表达为参与多肽分泌的前蛋白, 则该前序列或分泌性前导序

列的 DNA 可操作地连接至该多肽的 DNA；如果启动子或增强子影响编码序列的转录，则该启动子或增强子可操作地连接至该序列；或者如果核糖体结合位点被定位成使得有助于翻译，则该核糖体结合侧可操作地连接至编码序列。通常，“可操作地连接”意指所连接的 DNA 序列是连续的，并且在分泌性前导序列的情形下是连续的并处于阅读框中。然而，增强子不必
5 需是连续的。通过在方便的限制位点处连接来实现连接。如果不存在此类位点，则根据常规实践使用合成的寡核苷酸衔接子或连接子。

如本文所用，术语“载体”是指能够繁殖与其连接的另一核酸的核酸分子。该术语包括作为自我复制核酸结构的载体，以及掺入已引入其的宿主细胞基因组中的载体。某些载体能够指导与其可操作连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

10 如本文所用，术语“转染的”或“转化的”或“转导的”是指将外源核酸转移或引到宿主细胞中的过程。“转染的”或“转化的”或“转导的”细胞是使用外源核酸转染、转化或转导的细胞，该细胞包括原代目标细胞及其子代。

术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用，是指已引入外源核酸的细胞，包括此类细胞的子代。宿主细胞包括“转化体”和“转化细胞”，其包括原代转
15 化细胞和从其衍生的后代，而与传代次数无关。后代的核酸含量可能与亲代细胞不完全相同，并且可能含有突变。具有与在原始转化细胞中筛选或选择的功能或生物学活性相同的功能或生物学活性的突变后代包括在本文中。

术语“受试者”、“个体”和“患者”在本文可互换使用，是指哺乳动物，包括但不限于人、牛、马、猫、犬、啮齿动物或灵长类动物。在一些实施例中，受试者是人。

20 药剂的“有效量”是指在必要的剂量和时间段内有效达到所需治疗或预防结果的量。该特定剂量可以根据以下各项中的一种或多种来改变：所选择的具体药剂、随后的给药方案（无论它是否与其他化合物组合）、施用时间、成像的组织、以及其中携带它的物理递送系统。

本申请的物质/分子、激动剂或拮抗剂的“治疗有效量”可以根据例如疾病状态、年龄、性别和个体体重以及该物质/分子、激动剂或拮抗剂在个体中引发希望的应答的能力等因素而
25 变化。治疗有效量也是该物质/分子、激动剂或拮抗剂的任何毒性或有害作用均被治疗有益作用所抵消的量。治疗有效量可以一次或多次施用来递送。

“预防有效量”是指以剂量计并且持续所需的时间段以实现所希望的预防结果的有效的量。典型地，但非必需的，因为预防的剂量是在疾病之前或早期在受试者体内使用的，所以这种预防有效量将小于治疗有效量。

30 如本文所用，“治疗（treatment 或 treating）”是用于获得有益的或所希望的结果（包括临床结果）的方法。出于本申请的目的，有益的或所希望的临床结果包括但不限于以下中的一种或多种：缓解由疾病引起的一种或多种症状、减少疾病的程度、稳定疾病（例如，预防或延迟疾病的恶化）、预防或延迟疾病的传播（例如，转移）、预防或延迟疾病的重现、延迟或减缓疾病的进展，改善疾病状态、提供疾病的缓解（部分或全部）、减少治疗疾病所需的一种
35 或多种其他药物的剂量、延迟疾病的进展、增加或改善生活质量、增加体重增长和/或延长存

活。“治疗”还涵盖减少癌症的病理后果（像例如，肿瘤体积）。本申请的方法考虑了这些治疗方面中的任何一个或多个。“治疗”并不一定意味着所治疗的疾病将得到治愈。

应当理解，本文所述的申请的实施例包括“由.....组成”和/或“基本上由.....组成”。

如本文所用，术语“约（about）”或“大约（approximately）”意指由本领域普通技术人员确定的特定值在可接受的误差范围之内，这将部分地取决于该值是怎样测定或确定的，即，受到测量系统的限制。在某些实施例中，“约”可以意指根据本领域的实践在3个或大于3个标准差之内。在某些实施例中，“约”可以表示给定值的至多20%（例如，至多10%、至多5%或至多1%）的范围。在某些实施例中，特别是对于生物学系统和方法，该术语可以意指在某一值的数量级内，例如在5倍内或在2倍内。

如本文所用，术语“调节”是指正向或负向变化。示例性调节包括约1%、约2%、约5%、约10%、约25%、约50%、约75%或约100%的变化。

如本文所用，术语“增加”是指正向地改变至少约5%。改变可以为约5%、约10%、约25%、约30%、约50%、约75%、约100%或更多。

如本文所用，术语“减少”是指负向地变化至少约5%。改变可以为约5%、约10%、约25%、约30%、约50%、约75%或甚至约100%。

本文使用的术语“约X-Y”具有与“约X至约Y”相同的含义。

当在本文和附带的权利要求中使用，单数形式“一个/种（a）”、“或（or）”和“这些/该（the）”包括复数指代物，除非上下文明确地指示其他的情况。

“效应子功能”是指归因于抗体的Fc区的那些生物学活性，其随抗体同种型不同而变化。抗体效应子功能的实例包括：C1q结合和补体依赖性细胞毒性（CDC）、Fc受体结合、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性（ADCC）、吞噬作用、细胞表面受体（例如B细胞受体）的下调和B细胞活化。

“免疫缀合物”是指缀合至一个或多个异源分子（包括但不限于细胞毒性剂）的抗体。

术语“药物配制品”是指这样的制剂，其处于允许包含其中的活性成分的生物学活性有效的形式，并且不含对配制品所施用的受试者具有不可接受的毒性的其他组分。

如本文所用，“药学上可接受的载剂”是指药物配制品中除活性成分以外的对受试者无毒的成分。药学上可接受的载剂包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

术语“可变区”或“可变结构域”是指抗体重链或轻链的结构域，其参与抗体与抗原的结合。在某些实施例中，天然抗体的重链和轻链的可变结构域（分别为VH和VL）通常具有相似的结构，每个结构域包含四个保守框架区（FR）和三个CDR。（参见，例如Kindt等人 Kuby Immunology [库比免疫学]，第61版，W. H.弗里曼公司（W.H.Freeman and Co.），第91页（2007）。）单个VH或VL结构域可足以赋予抗原结合特异性。此外，可以使用VH或VL结构域从结合抗原的抗体中分离结合特定抗原的抗体，以分别筛选互补的VL或VH结构域的文库。参见，例如Portolano等人，J. Immunol.[免疫学杂志] 150:880-887（1993）；Clarkson等人，Nature [自然] 352:624-628（1991）。

2. 抗体

在某些实施例中，本发明部分基于发现与 TIGIT 结合的单结构域抗体，其可用于抗肿瘤治疗中，其中所述抗体选择性抑制 TIGIT 受体并诱导免疫细胞（例如，T 细胞）的有益免疫应答。因此，本公开提供了抗 TIGIT 抗体。在某些实施例中，本文公开的抗 TIGIT 抗体是抑制 TIGIT 受体功能的拮抗剂抗体。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体阻断 TIGIT 受体和配体之间的相互作用。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体阻断来自 TIGIT 受体的免疫抑制信号。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体包含单结构域抗体，例如骆驼科动物抗体或 VHH 抗体。在某些实施例中，由于抗 TIGIT 抗体与 IgG、Fab 和/或 scFv 形式的传统抗体相比尺寸较小，因此其具有改善的组织浸润能力。

在某些实施例中，本公开的抗体可以是或包含单克隆抗体（包括嵌合抗体、人源化抗体或人抗体）。在某些实施例中，本文公开的抗体包含人源化抗体。在某些实施例中，抗体包含受体人框架，例如人免疫球蛋白框架或人共有框架。

在某些实施例中，本公开的抗体可以是抗体片段，例如 Fv、Fab、Fab'、scFv、双抗体或 F(ab')₂ 片段。在某些实施例中，抗体是全长抗体，例如完整的 IgG 1 抗体、或本文定义的其他抗体类型或同种型。在某些实施例中，本公开的抗体可以单独或组合地掺入任何（如本申请中所述的（例如，本文详述的第 2.1-2.11 节））特征。

本公开的抗体可用于例如诊断或治疗赘生物或癌症。在某些实施例中，使用本公开的抗体可以抑制其生长的瘤形成和癌症包括通常对免疫疗法有响应的瘤形成和癌症。在某些实施例中，瘤形成和癌症包括乳腺癌（例如，乳腺细胞癌）、卵巢癌（例如，卵巢细胞癌）和肾细胞癌（RCC）。可以使用本公开的方法治疗的其他癌症的实例包括黑素瘤（例如，转移性恶性黑素瘤），前列腺癌，结肠癌，肺癌，骨癌，胰腺癌，皮肤癌，脑瘤，慢性或急性白血病（包括急性髓细胞性白血病，慢性粒细胞性白血病，急性淋巴细胞性白血病，慢性淋巴细胞性白血病），淋巴瘤（例如霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤，淋巴细胞性淋巴瘤，原发性中枢神经系统（CNS）淋巴瘤，T 细胞淋巴瘤），鼻咽癌，头或颈癌，皮肤癌或眼内恶性黑色素瘤，子宫癌，直肠癌，肛门区域癌，胃癌，睾丸癌，子宫癌，输卵管癌，子宫内膜癌，子宫颈癌，阴道癌，外阴，食道癌，小肠癌，内分泌系统癌，甲状腺癌，甲状旁腺癌，乳腺旁癌（cancer of the adbreast gland），软组织肉瘤，尿道癌，阴茎癌，儿童实体瘤，膀胱癌，肾癌或输尿管癌，乳腺骨盆癌，中枢神经系统（CNS）赘生物，肿瘤血管生成，脊柱肿瘤，脑干神经胶质瘤，垂体腺瘤，卡波西氏肉瘤，表皮样癌，鳞状细胞癌，环境诱导的癌症，包括由石棉（例如间皮瘤）诱导的癌症以及上述癌症的组合。

2.1 示例性抗 TIGIT 抗体

本公开提供了结合 TIGIT 蛋白的分离的抗体。在某些实施例中，本公开的抗 TIGIT 抗体结合 TIGIT 的 ECD。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体与包含 SEQ ID NO: 222 所示氨基酸序列的 TIGIT 的 ECD 结合。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体结合与本文所述的抗 TIGIT 抗体（例如 2A3）相同的表位。

在某些实施例中，本文公开的抗 TIGIT 抗体可以用作 TIGIT 受体的拮抗剂。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体可以使 TIGIT 受体的活性降低至少约 10%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%、约 99%或约 99.9%。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体可以阻断 TIGIT 受体的下游免疫抑制信号传导。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体增加免疫细胞（例如 T 细胞和/或 NK 细胞）的免疫应答和/或抗肿瘤作用。在某些实施例中，使用抗 TIGIT 抗体的治疗在受试者中表现出抗肿瘤功效，从而减少肿瘤生长和/或延长受试者的存活期。在某些实施例中，包含单结构域抗体（例如，VHH）的抗 TIGIT 抗体与全长抗体相比具有较小的分子尺寸，这是因为与全长抗体的 Fab 结构域相比，单结构域抗体的尺寸较小，这样与全长抗体相比，可以导致（例如在肿瘤部位）优异的组织浸润。在某些实施例中，与使用全长抗 TIGIT 抗体（例如参考 Ab1 和参考 Ab 2）的治疗相比，使用抗 TIGIT 抗体的治疗表现出更优异的抗肿瘤功效。参考 Ab1 具有与在 U.S. 2016/0176963 A1 中公开的 BMS22G2 相同的氨基酸序列，参考 Ab2 具有与 Tiragolumab 相同的氨基酸序列，其序列在 U.S. 2017/0088613 A1 中公开。

在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体包含与 TIGIT 结合的单结构域抗体。在某些实施例中，单结构域抗体包含 VHH。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区（VH）。在某些实施例中，单结构域抗体连接至 Fc 区。在某些实施例中，单结构域抗体不连接至 Fc 区。

在某些实施例中，单结构域抗体以约 1×10^{-7} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。在某些实施例中，单结构域抗体以约 1×10^{-8} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。在某些实施例中，单结构域抗体以约 5×10^{-9} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。在某些实施例中，单结构域抗体以约 1×10^{-9} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。在某些实施例中，单结构域抗体以约 1×10^{-9} M 至约 1×10^{-7} M 之间的 KD 与 TIGIT 结合。在某些实施例中，单结构域抗体以约 1×10^{-9} M 至约 1×10^{-8} M 之间的 KD 与 TIGIT 结合。在某些实施例中，单结构域抗体以约 2×10^{-9} M 至约 1×10^{-8} M 之间的 KD 与 TIGIT 结合。在某些实施例中，单结构域抗体以约 2×10^{-9} M 至约 5×10^{-8} M 之间的 KD 与 TIGIT 结合。在某些实施例中，单结构域抗体以约 1×10^{-9} M 至约 5×10^{-9} M 之间的 KD 与 TIGIT 结合。

在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 94 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 95 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 96 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 98 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 99 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 100 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 102 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 103 所示序列的氨

竞争与 TIGIT 结合, 该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 182 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 183 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 184 所示序列的氨基酸。在某些实施例中, 单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合, 该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 186 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 187 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 188 所示序列的氨基酸。在某些实施例中, 单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合, 该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 190 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 191 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 192 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中, 单结构域抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含: a) 重链可变区 CDR1, 该重链可变区 CDR1 包含 SEQ ID NO: 94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、146、150、154、158、162、166、170、174、178、182、186 和 190 中任何一个的氨基酸序列, 或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体; b) 重链可变区 CDR2, 该重链可变区 CDR2 包含 SEQ ID NO: 95、99、103、107、111、115、119、123、127、131、135、139、143、147、151、155、159、163、167、171、175、179、183、187 和 191 中任何一个的氨基酸序列, 或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体; 以及 c) 重链可变区 CDR3, 该重链可变区 CDR3 包含 SEQ ID NO: 96、100、104、108、112、116、120、124、128、132、136、140、144、148、152、156、160、164、168、172、176、180、184、188 和 192 中任何一个的氨基酸序列, 或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体。

在某些实施例中, 单结构域抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域, 其中该 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域分别含有包含在参考重链可变区中的 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域, 该参考重链可变区包含选自由 SEQ ID NO: 97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161、165、169、173、177、181、185、189 和 193 组成的组的氨基酸序列。

在某些实施例中, 单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 94 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 95 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 96 所示序列的氨基酸。在某些实施例中, 单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 98 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 99 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 100 所示序列的氨基酸。在某些实施例中, 单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 102 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 103 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 104 所示序列的氨基酸。在某些实施例中, 单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO:

106 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 107 所示序列的氨基酸；
和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 108 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单
结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 110 所示序列的氨基酸；重链
可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 111 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包
5 含具有 SEQ ID NO: 112 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变
区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 114 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有
SEQ ID NO: 115 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 116 所示
序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID
NO: 118 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 119 所示序列的氨
10 基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 120 所示序列的氨基酸。在某些实施例
中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 122 所示序列的氨基酸；
重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 123 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，
其包含具有 SEQ ID NO: 124 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链
可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 126 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含
15 具有 SEQ ID NO: 127 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 128
所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有
SEQ ID NO: 130 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 131 所示序
列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 132 所示序列的氨基酸。在某些
实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 134 所示序列的
20 氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 135 所示序列的氨基酸；和重链可变区
CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 136 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包
含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 138 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，
其包含具有 SEQ ID NO: 139 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO:
140 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具
25 有 SEQ ID NO: 142 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 143 所示
序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 144 所示序列的氨基酸。在某
些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 146 所示序列
的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 147 所示序列的氨基酸；和重链可变
区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 148 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体
30 包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 150 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，
其包含具有 SEQ ID NO: 151 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO:
152 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具
有 SEQ ID NO: 154 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 155 所示
序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 156 所示序列的氨基酸。在某
35 些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 158 所示序列

的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 159 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 160 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 162 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 163 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 164 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 166 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 167 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 168 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 170 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 171 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 172 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 174 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 175 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 176 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 178 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 179 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 180 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 182 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 183 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 184 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 186 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 187 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 188 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 190 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 191 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 192 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含与选自由 SEQ ID NO: 97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161、165、169、173、177、181、185、189 和 193 组成的组的氨基酸序列具有至少约 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100% 序列同一性的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含选自由 SEQ ID NO: 97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161、165、169、173、177、181、185、189 和 193 组成的组的氨基酸序列。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 97 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 101 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 105 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 109 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含

重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 113 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 117 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 121 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 125 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 129 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 133 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 137 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 141 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 145 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 149 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 153 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 157 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 161 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 165 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 169 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 173 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 177 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 181 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 185 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 189 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 193 所示的氨基酸序列。

在某些实施例中，重链可变区中包含的任何氨基酸序列可包含至多约 1、约 2、约 3、约 4、约 5、约 6、约 7、约 8、约 9 或约 10 个氨基酸取代、缺失和/或添加。在某些实施例中，氨基酸取代是保守取代。

在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 1 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 2 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 3 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该参考抗 TIGIT 单结构域抗体包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 5 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 6 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 7 所示序列的氨基酸。在某些实施例中，单结构域抗体与参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT

所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 51 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 53 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 54 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 55 所示序列的氨基酸。

5 在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 57 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 58 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 59 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 61 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 62

10 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 63 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 65 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 66 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 67 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，

15 其包含具有 SEQ ID NO: 69 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 70 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 71 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 73 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 74 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 75 所示序列的氨基酸。

20 在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 77 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 78 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 79 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含：重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 81 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 82

25 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 83 所示序列的氨基酸。

在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含与选自由 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、80 和 84 组成的组的氨基酸序列具有至少约 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100% 序列同一性的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含

30 重链可变区，该重链可变区包含选自由 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、80 和 84 组成的组的氨基酸序列。

在某些实施例中，重链可变区中包含的任何氨基酸序列可包含至多约 1、约 2、约 3、约 4、约 5、约 6、约 7、约 8、约 9 或约 10 个氨基酸取代、缺失和/或添加。在某些实施例中，氨基酸取代是保守取代。

35 在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 4 所示

的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 16 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 20 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 40 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 44 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 48 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 52 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 60 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 72 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 76 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 80 所示的氨基酸序列。在某些实施例中，单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列。

25 在某些实施例中，单结构域抗体包含人源化框架。在某些实施例中，人源化框架包含选自 SEQ ID NO: 85-93 组成的组的重链可变区序列的框架序列。在某些实施例中，人源化框架包含选自 SEQ ID NO: 85-93 组成的组的重链可变区序列的 FR2 序列。

在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体不包含 Fc 区。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体包含 Fc 区。在某些实施例中，Fc 区包含人 Fc 区。在某些实施例中，Fc 区包含选自下组的 Fc 区，该组由以下组成：IgG、IgA、IgD、IgE 和 IgM 的 Fc 区。在某些实施例中，Fc 区包含选自下组的 Fc 区，该组由以下组成：IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 的 Fc 区。在某些实施例中，Fc 区包含 IgG1 Fc 区。在某些实施例中，IgG1 Fc 区包含一种或多种增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒性（ADCC）的突变。在某些实施例中，IgG1 Fc 区包含 L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L 的突变。在某些实施例中，IgG1 Fc 区包含 S239D、A330L 和 I332E 的突变。在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体包含 SEQ ID NO: 194 所示的氨基酸序列。

在某些实施例中，重链可变区通过接头连接至 Fc 区。在某些实施例中，接头是肽接头。在某些实施例中，肽接头包含约 4 至约 30 个氨基酸。在某些实施例中，肽接头包含约 4 至约 15 个氨基酸。在某些实施例中，肽接头包含选自由 SEQ ID NO: 195-220 组成的组的氨基酸序列。

5 在某些实施例中，该抗 TIGIT 抗体包含多特异性抗体，例如双特异性抗体，全长免疫球蛋白，单链 Fv(scFv)片段，Fab 片段，Fab'片段，F(ab')₂，Fv 片段，二硫键稳定的 Fv 片段(dsFv)，(dsFv)₂，VHH，Fv-Fc 融合物，scFv-Fc 融合物，scFv-Fv 融合物，双抗体，三抗体，四抗体或任何它们的组合。在某些实施例中，抗体包含多特异性抗体（例如双特异性抗体），其包含特异性结合第二抗原的第二抗体部分。

10 在某些实施例中，第二抗原是肿瘤相关抗原。在某些实施例中，肿瘤相关抗原选自下组，该组由以下组成：Her-2，EGFR，PD-L1，c-Met，B 细胞成熟抗原（BCMA），碳酸酐酶 IX（CA1X），癌胚抗原（CEA），CD5，CD7，CD10，CD19，CD20，CD22，CD30，CD33，CD34，CD38，CD41，CD44，CD49f，CD56，CD74，CD123，CD133，CD138，CD276（B7H3），上皮糖蛋白（EGP2），滋养层细胞表面抗原 2（TROP-2），上皮糖蛋白-40（EGP-40），上皮细
15 胞粘附分子（EpCAM），受体酪氨酸蛋白激酶 erb-B2、3、4，叶酸结合蛋白（FBP），胎儿乙酰胆碱受体（AChR），叶酸受体-a，神经节苷脂 G2（GD2），神经节苷脂 G3（GD3），人端粒酶逆转录酶（hTERT），激酶插入结构域受体（KDR），Lewis A（CA 1.9.9），Lewis Y（LeY），磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3（GPC3），L1 细胞粘附分子（L1CAM），粘蛋白 16（Muc-16），粘蛋白 1（Muc-1），NG2D 配体，癌胚抗原（h5T4），前列腺干细胞抗原（PSCA），前列腺特异性
20 膜抗原（PSMA），肿瘤相关糖蛋白 72（TAG-72），密封蛋白 18.2（CLDN18.2），血管内皮生长因子 R2（VEGF-R2），肾母细胞瘤蛋白（WT-1），1 型酪氨酸蛋白激酶跨膜受体（ROR1）及其任何组合。

在某些实施例中，第二抗原是免疫检查点调节剂。在某些实施例中，免疫检查点调节剂选自由以下组成的组：PD1、CTLA4、LAG-3、2B4、BTLA 及其任何组合。

25 在某些实施例中，抗 TIGIT 抗体缀合至治疗剂或标记。在某些实施例中，标记选自下组，该组由以下组成：放射性同位素、荧光染料和酶。

2.2 抗体亲和力

在某些实施例中，本文公开的抗体或多特异性抗体的抗原结合部分对其靶抗原具有高结合亲和力。在某些实施例中，抗体或抗原结合部分以约 1×10^{-7} M 或更小的 KD 结合靶标。在
30 某些实施例中，抗体或抗原结合部分以约 1×10^{-8} M 或更小的 KD 结合靶标。在某些实施例中，抗体或抗原结合部分以约 5×10^{-9} M 或更小的 KD 结合靶标。在某些实施例中，抗体或抗原结合部分以约 1×10^{-9} M 或更小的 KD 结合靶标。在某些实施例中，抗体或抗原结合部分以约 1×10^{-9} M 至约 1×10^{-7} M 之间的 KD 结合靶标。在某些实施例中，抗体或抗原结合部分以 KD 结合至靶标在约 1×10^{-9} M 和约 1×10^{-8} M 之间的抗体。在某些实施例中，抗体或抗原结合部分
35 以约 2×10^{-9} M 和约 1×10^{-8} M 之间的 KD 结合靶标。在某些实施例中，抗体或抗原结合部分以

约 2×10^{-9} M 至约 5×10^{-8} M 之间的 KD 结合靶标。在某些实施例中，抗体或抗原结合部分以约 1×10^{-9} M 至约 5×10^{-9} M 之间的 KD 结合靶标。

抗体或抗原结合部分的 KD 可以通过本领域已知的方法确定。这类方法包括但不限于蛋白质印迹、ELISA-、RIA-、ECL-、IRMA-、EIA-、Octet- BIACORE®-检验和肽扫描。

5 在某些实施例中，可以使用 BIACORE® 表面等离子体共振测定法测量 KD。例如但不限于，在固定的抗原 CMS 芯片上以约 10 个响应单位 (RU) 在 25°C 下使用 BIACORE®-2000 或 BIACORE® 3000 (Biacore 公司，皮斯卡塔韦 (Piscataway)，新泽西州 (NJ)) 进行测定。在某些实施例中，根据供应商说明书，将羧甲基化葡聚糖生物传感器芯片 (CMS, Biacore 公
10 司) 用 N-乙基-N'-(3-二甲基氨丙基)-碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 和 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 进行活化。将抗原用 pH 4.8 的 10 mM 乙酸钠稀释至 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (大约 0.2 μM)，之后以 5 $\mu\text{l}/\text{分钟}$ 的流速注入，以实现偶联蛋白质的大约 10 个响应单位 (RU)。在注入抗原之后，将 1 M 乙醇胺注入以封闭未反应的基团。对于动力学测量，在 25°C，将在具有 0.05% 聚山梨醇酯 20 (TWEEN-20™) 表面活性剂 (PBST) 的 PBS 中的 Fab 的双倍的连续稀释物 (0.78 nM 至 500 nM) 以大约 25 $\mu\text{l}/\text{min}$ 的流速注入。缔合速率 (k_{on}) 和解离速率 (k_{off}) 是使用简单的一
15 对一朗缪尔结合模型 (BIACORE® 评估软件版本 3.2) 通过同时拟合缔合与解离传感图来计算。可以将平衡解离常数 (KD) 计算为比率 $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 。参见例如, Chen 等人, J. Mol. Biol. [分子生物学杂志] 293:865-881 (1999)。如果通过以上表面等离子体共振测定法的缔合速率 (on-rate) 超过 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ，则缔合速率可以通过使用荧光淬灭技术来确定，该技术在增加的抗原浓度 (如光谱仪例如截流配置的分光光度计 (阿维夫仪器) 或具有搅拌吸收池的 8000 系
20 列 SLM-AMINCO™ 分光光度计 (ThermoSpectronic 公司) 测量的) 的存在下，在 25°C 测量 PBS (pH 7.2) 中的 20 nM 抗-抗原抗体 (Fab 形式) 的荧光发射强度 (激发 = 295 nm; 发射 = 340 nm, 16 nm 带通) 的增加或减少。

2.3 抗体片段

在某些实施例中，本公开的抗体包含抗原结合片段或抗体片段。抗体片段包括但不限于
25 Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv 和 scFv 片段，以及以下描述的其他片段。有关某些抗体片段的综述，请参见 Hudson 等人, Nat. Med.[自然医学] 9: 129-134 (2003)。关于 scFv 片段的综述，参见例如, Pluckthtin, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies[单克隆抗体的药理学]，第 113 卷，Rosenburg 和 Moore 编辑，(施普林格出版社 (Springer-Verlag)，纽约)，第 269-315 页 (1994); 还参见 WO 93/16185; 以及美国专利号 5,571,894 和 5,587,458。关于包含补救受体
30 结合表位残基并具有增加的体内半衰期的 Fab 和 F(ab)₂ 片段的讨论，请参见美国专利号 5,869,046。

在某些实施例中，本公开的抗体可以是双抗体。双抗体是具有两个可以是二价或双特异性的抗原结合位点的抗体片段。参见例如，EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson 等人, Nat. Med.[自然医学] 9:129-134 (2003); 和 Hollinger 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美国国家科学
35 院院刊] 90: 6444-6448 (1993)。三抗体和四抗体还被描述于 Hudson 等人, Nat. Med.[自然医学]

9:129-134 (2003)中。

在某些实施例中，本公开的抗体可包含单结构域抗体。单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施例中，单结构域抗体是人单结构域抗体（Domantis 公司，沃尔瑟姆（Waltham），马萨诸塞州（MA）；参见
5 例如，美国专利号 6,248,516 B1）。在某些实施例中，单结构域抗体是骆驼科动物单结构域抗体。在某些实施例中，单结构域抗体是 VHH。在某些实施例中，单结构域抗体是人源化的。

抗体片段可以通过多种技术制备，这些技术包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及重组宿主细胞（例如大肠杆菌或噬菌体）的生产，如本文所述。

2.4 嵌合抗体和人源化抗体

10 在某些实施例中，本公开的包括多特异性抗体的抗原结合部分的抗体是嵌合抗体。某些嵌合抗体描述于，例如，美国专利号 4,816,567；和 Morrison 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美国国家科学院院刊], 81:6851-6855 (1984) 中。在某些实施例中，嵌合抗体包含非人可变区（例如，源自小鼠的可变区）和人恒定区。在某些实施例中，嵌合抗体是其中类别或亚类已经从亲本抗体的类别或亚类改变的“类别转换”抗体。嵌合抗体包括其抗原结合片段。

15 在某些实施例中，本公开的包括多特异性抗体的抗原结合部分的抗体可以是人源化抗体。通常，将非人抗体进行人源化以减少对人的免疫原性，同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。通常，人源化抗体包含一个或多个可变结构域，其中 HVR，例如 CDR，（或其部分）衍生自非人抗体，而 FR（或其任何部分）源自人抗体序列。人源化抗体还可以任选地包含人恒定区的至少一部分。在某些实施例中，人源化抗体中的某些 FR 残基被来自非人抗体（例
20 如，源自 HVR 残基的抗体）的相应残基取代，例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

人源化抗体及其制备方法描述于例如 Almagro 和 Fransson, Front.Biosci.[生物科学前沿] 13:1619-1633 (2008)中，并在例如 Riechmann 等人, Nature [自然] 332:323-329 (1988)中进一步描述；Queen 等人, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA [美国国家科学院院刊] 86:10029-10033 (1989)；美国专利号 5,821,337、7,527,791、6,982,321 和 7,087,409；Kashmiri 等人, Methods [方法]
25 36:25-34 (2005)（描述了 SDR (a-CDR)移植）；Padlan, Mol. Immunol.[分子免疫学] 28:489-498 (1991)（描述“重修表面”）；Dall'Acqua 等人, Methods [方法] 36:43-60 (2005)（描述了“FR 改组”）；和 Osbourn 等人, Methods [方法] 36:61-68 (2005)和 Klimka 等人, Br. J. Cancer [英国癌症杂志], 83:252-260 (2000)（描述了 FR 改组的“指导选择”方法）。

可用于人源化的人类框架区包括但不限于：使用“最佳拟合”方法选择的框架区（参见，
30 例如，Sims 等人 J. Immunol.[免疫学杂志] 151:2296 (1993)）；源自轻链或重链可变区的特定亚组的人抗体的共有序列的框架区（参见，例如，Carter 等人 Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美国国家科学院院刊], 89:4285 (1992)；和 Presta 等人 J. Immunol.[免疫学杂志], 151:2623 (1993)）；人类成熟的（体细胞突变的）构架区或人种系框架区（参见，例如 Almagro 和 Fransson, Front.Biosci.[生物科学前沿] 13:1619-1633 (2008)）；以及筛选 FR 文库得到的框架区（参见，
35 例如 Baca 等人, J. Biol. Chem.[生物化学杂志] 272:10678-10684 (1997) 和 Rosok 等人, J. Biol.

Chem.[生物化学杂志] 271:22611-22618 (1996))。

2.5 人抗体

在某些实施例中，本公开的抗体可以是人抗体（例如，人结构域抗体或人 DAb）。人抗体可以使用本领域中已知的不同技术产生。人抗体一般在 van Dijk 和 van de Winkel, *Curr.Opin. Pharmacol.*[药理学新见]5: 368-74 (2001), Lonberg, *Curr.Opin. Immunol.*[免疫学新见] 20:450-459 (2008), 和 Chen, *Mol. Immunol.*[分子免疫学] 47(4):912-21 (2010)中描述。能够产生完全人单结构域抗体（或 DAb）的转基因小鼠或大鼠是本领域已知的。参见例如 US20090307787A1、美国专利号 8,754,287、US20150289489A1、US20100122358A1、和 WO 2004049794。

10 可以通过向转基因动物施用免疫原来制备人抗体（例如人 DAb），该转基因动物已被修饰以响应抗原攻击而产生完整的人抗体或具有人可变区的完整抗体。这样的动物通常含有全部或部分的人免疫球蛋白基因座，它们取代了内源性免疫球蛋白基因座，或者存在于染色体外或随机整合到动物的染色体中。在这种转基因小鼠中，内源性免疫球蛋白基因座通常已被灭活。对于从转基因动物中获得人抗体的方法的综述，参见 Lonberg, *Nat. Biotech.*[自然生物技术] 23:1117-1125 (2005)。还参见例如描述 XENOMOUSE™ 技术的美国专利号 6,075,181 和 6,150,584；描述 HuMab® 技术的美国专利号 5,770,429；描述 K-M MOUSE® 技术的美国专利号 7,041,870，和描述 VelociMouse® 技术的美国专利申请公开号 US 2007/0061900)。来自这类动物产生的完整抗体的人可变区可以（例如通过与不同的人恒定区结合）被进一步修饰。

人抗体（例如人 DAb）也可以通过基于杂交瘤的方法来制备。已经描述了用于产生人单克隆抗体的人骨髓瘤和小鼠人异源骨髓瘤细胞系（参见，例如，Kozbor *J. Immunol.*[免疫学杂志], 133: 3001 (1984); Brodeur 等人, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*[单克隆抗体生产技术和应用], 第 51-63 页马塞尔德克尔公司(Marcel Dekker,Inc.), 纽约, 1987); 和 Boerner 等人, *J. Immunol.*[免疫学杂志], 147: 86 (1991))。Li 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* [美国国家科学院院刊], 103:3557-3562 (2006)中还描述了通过人 B 细胞杂交瘤技术产生的人抗体。另外的方法包括例如在美国专利号 7,189,826（描述从杂交瘤细胞系生产单克隆人 IgM 抗体）和 Ni, *Xiandai Mianyixue*[现代免疫学], 26(4):265-268 (2006)（描述人-人杂交瘤）中描述的那些方法。人杂交瘤技术（Trioma 技术）也描述于 Vollmers 和 Brandlein, *Histology and Histopathology*[组织学和组织病理学], 20(3):927-937 (2005)和 Vollmers 和 Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* [实验和临床药理学的方法和发现], 27(3):185-91 (2005)中。

人抗体（例如人 DAb）也可以通过分离选自人源噬菌体展示文库的 Fv 克隆可变结构域序列来产生。然后将此类可变结构域序列与所需的人恒定域结合。从抗体库中选择人抗体的技术描述如下。

2.6 文库衍生的抗体

35 可以通过在组合文库中筛选具有所需活性或多种活性的抗体来分离抗体部分。例如，本

领域已知多种用于产生噬菌体展示文库并筛选此类文库中具有所需结合特性的抗体的方法。这类方法在例如 Hoogenboom 等人 *Methods in Molecular Biology* [分子生物学方法] 178:1-37 (O'Brien 等人编辑, 哈门那出版社 (Human Press), 托托瓦 (Totowa), 新泽西州 (NJ), 2001) 中描述, 并且在以下文献中进一步描述: McCafferty 等人, *Nature* [自然] 348:552-554; Clackson 等人, *Nature* [自然] 352: 624-628 (1991); Marks 等人, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志] 222: 581-597 (1992); Marks 和 Bradbury, *Methods in Molecular Biology* [分子生物学方法] 248:161-175 (Lo 编辑, 哈门那出版社 (Human Press), 托托瓦 (Totowa), 新泽西州 (NJ), 2003); Sidhu 等人, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志] 338(2): 299-310 (2004); Lee 等人, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志] 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* [美国国家科学院院刊] 101(34): 12467-12472 (2004); 和 Lee 等人, *J. Immunol. Methods* [免疫学方法杂志] 284(1-2): 119-132(2004)。已经描述了用于构建单结构域抗体文库的方法, 例如, 参见美国专利号 7371849。

在某些噬菌体展示方法中, 通过聚合酶链反应 (PCR) 分别克隆 V_H 和 V_L 基因库, 并在噬菌体文库中随机重组, 然后可以按照 Winter 等人, *Ann.Rev. Immunol.* [免疫学年度评论], 12: 433-455 (1994) 中的描述筛选抗原结合噬菌体。噬菌体通常将抗体片段展示为 scFv 片段或 Fab 片段。来自免疫源的文库无需构建杂交瘤即可提供针对免疫原的高亲和力抗体。可替代地, 可以如 Griffiths 等人, *EMBO J* [欧洲分子生物学学会杂志], 12: 725-734 (1993) 所述在无需任何免疫的情况下克隆天然文库 (例如从人中获得) 以提供针对广泛范围的非自身以及自身抗原的抗体的单一来源。最后, 如 Hoogenboom 和 Winter, *J. Mol. Biol.* [分子生物学杂志], 227: 381-388 (1992) 所述, 还可以通过从干细胞克隆未重排的 V 基因片段, 并使用包含随机序列的 PCR 引物来编码高度可变的 CDR3 区并在体外完成重排, 来合成天然文库。描述人抗体噬菌体文库的专利出版物包括: 美国专利号 5,750,373 和美国专利公开号 2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936 和 2009/0002360。

从人抗体文库分离的抗体或抗体片段在本文中被认为是人抗体或人抗体片段。

2.7 抗体变体

当前公开的主题还提供了公开的抗体的氨基酸序列变体。例如, 可能需要改善该抗体的结合亲和力和/或其他生物特性。可以通过将适当的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中或通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。这样的修饰包括但不限于抗体的氨基酸序列内的残基的缺失和/或插入和/或取代。可以进行缺失、插入和取代的任何组合以得到最终的构建体, 条件是最终的 (即经过修饰的) 抗体具有所需的特性 (例如抗原结合)。

2.7.1 取代、插入和缺失变体

在某些实施例中, 提供了具有一个或多个氨基酸取代的抗体变体。取代诱变的目标位点包括 HVR (或 CDR) 和 FR。保守取代示于表 2 中“优选取代”标题之下。表 2 中在“示例性取代”的标题下提供了更实质的变化, 并且如下文参考氨基酸侧链类别进一步描述的。氨

氨基酸取代可以引入目的抗体中，并针对所希望的活性（例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性、或改善的 ADCC 或 CDC）筛选产物。

表 2.氨基酸取代

原始残基	示例性取代	优选取代
Ala(A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp、Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 正亮氨酸	Leu
Leu (L)	正亮氨酸; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 正亮氨酸	Leu

5 氨基酸可以根据常见的侧链特性进行分组：（1）疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；（2）中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；（3）酸性：Asp、Glu；（4）碱性：His、Lys、Arg；（5）影响链取向的残基：Gly、Pro；和（6）芳香族的：Trp、Tyr、Phe。在某些实施例中，非保守取代将需要将这些类别中的一个的成员交换为另一个类别。

10 在某些实施例中，取代变体的一种类型涉及取代亲本抗体（例如，人源化或人抗体）的一个或多个高变区残基。通常，选择用于进一步研究的所得变体将相对于亲本抗体在某些生物学特性（例如，增加的亲和力、降低的免疫原性）上具有修饰（例如，改善）和/或将基本上保留了亲本抗体的某些生物学特性。示例性取代变体是亲和力成熟的抗体，该抗体可以方

便地生成，例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术（例如本文披露的那些）。简而言之，对一个或多个 HVR（或 CDR）残基进行突变，并且将变体抗体在噬菌体上展示并针对特定生物学活性（例如结合亲和力）进行筛选。

可以在 HVR（或 CDR）中进行改变（例如，取代），例如以改善抗体亲和力。此类改变可以在 HVR（或 CDR）“热点”（即由在体细胞成熟过程期间以高频率经历突变的密码子编码的残基）中进行（参见例如，Chowdhury, *Methods Mol. Biol.*[分子生物学方法] 207:179-196 (2008)）和/或 SDR（a-CDR）中进行，测试所得变体 VH 或 VL 的结合亲和力。通过构建和从二级文库中重新选择而进行的亲和力成熟已经描述于例如，Hoogenboom 等人 *Methods in Molecular Biology* [分子生物学方法] 178:1-37（O'Brien 等人编辑，哈门那出版社（Human Press），托托瓦（Totowa），新泽西州（NJ），(2001)）中。在亲和力成熟的某些实施例中，通过多种方法（例如，易错 PCR，链改组，或寡核苷酸定向诱变）中的任一种，将多样性引入选择用于成熟的可变基因中。然后产生二级文库。然后筛选文库以鉴别具有所希望的亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及 HVR（或 CDR）定向方法，其中使若干 HVR（或 CDR）残基（例如一次 4-6 个残基）随机化。可例如使用丙氨酸扫描诱变或模型化来特异性地鉴别抗原结合中涉及的 HVR（或 CDR）残基。特别是 CDR-H3 和 CDR-L3 经常成为靶标。

在某些实施例中，取代、插入或缺失可在一个或多个 HVR（或 CDR）内发生，只要这样的改变基本上不降低抗体结合抗原的能力。例如，可以在 HVR（或 CDR）中进行基本上不降低结合亲和力的保守改变（例如，如本文提供的保守取代）。此类改变可能在 HVR（或 CDR）“热点”或 CDR 之外。在以上提供的变体 VHH 序列的某些实施例中，每个 HVR（或 CDR）是未改变的，或包含不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

如 Cunningham 和 Wells (1989) *Science* [科学], 244:1081-1085 所述，用于鉴定可以靶向诱变的抗体的残基或区域的有用方法称为“丙氨酸扫描诱变”。在这种方法中，鉴定目标残基的残基或残基组（例如，带电荷的残基，例如 Arg、Asp、His、Lys 和 Glu），并用中性或带负电荷的氨基酸（例如，丙氨酸或聚丙氨酸）取代，以确定抗体与抗原的相互作用是否受到影响。可以在氨基酸位置引入另外的取代，证明对初始取代的功能敏感性。可替代地或另外地，抗原-抗体复合物的晶体结构用于鉴定抗体和抗原之间的接触点。这样的接触残基和邻近残基可以被靶向或消除作为取代候选。可以筛选变体以确定它们是否包含所需的属性。

氨基酸序列插入包括氨基末端和/或羧基末端融合，长度在一个残基至含有一百个或更多残基的多肽的范围内，以及单一或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实例包括具有 N 末端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括与抗体的 N-或 C-末端与增加抗体的血清半衰期的酶（例如，对于 ADEPT）或多肽融合。

2.7.2 糖基化变体

在某些实施例中，改变抗体部分以增加或减少构建体糖基化的程度。向抗体中添加或缺失糖基化位点可通过改变氨基酸序列以产生或去除一个或多个糖基化位点而方便地实现。

当抗体部分包含 Fc 区（例如，scFv-Fc）时，与其相连的碳水化合物可以发生改变。由哺乳动物细胞产生的天然抗体通常包含分支的双触角寡糖，其通常通过 N-键连接至 Fc 区 C_H2 结构域的 Asn297。参见，例如 Wright 等人 TIBTECH 15:26-32 (1997)。寡糖可以包括多种碳水化合物，例如，甘露糖、N-乙酰基葡糖胺（GlcNAc）、半乳糖和唾液酸，以及在双触角寡糖结构的“茎”中附着于 GlcNAc 的岩藻糖。在某些实施例中，可以对抗体部分中的寡糖进行修饰，以产生具有某些改善的特性的抗体变体。

在某些实施例中，抗体部分具有碳水化合物结构，该碳水化合物结构缺少（直接或间接）附接至 Fc 区的岩藻糖。例如，此类抗体中的岩藻糖含量可以为 1%至 80%、1%至 65%、5%至 65%或 20%至 40%。岩藻糖的量是通过计算 Asn297 糖链中岩藻糖的平均量来确定的，相对于通过 MALDI-TOF 质谱测量的与 Asn 297 附接的所有糖结构（例如，复合、杂合和高甘露糖结构）的总和，如 WO 2008/077546 中所述。Asn297 是指位于 Fc 区中约 297 位的天冬酰胺残基（Fc 区残基的 EU 编号）；然而，由于抗体中的微小序列变化，Asn297 也可位于位置 297 上游或下游约±3 个氨基酸，即在位置 294 和 300 之间。这类岩藻糖基化变体可以具有改善的 ADCC 功能。参见例如，美国专利公开号 US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621（协和发酵工业株式会社（Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.））。与“去岩藻糖基化”或“岩藻糖缺陷型”抗体变体有关的出版物实例包括：US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki 等人 J. Mol. Biol.[分子生物学杂志] 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki 等人 Biotech. Bioeng.[生物技术和生物工程]87: 614 (2004)。能够产生去岩藻糖基化抗体的细胞系的实例包括蛋白质岩藻糖基化作用缺陷型的 Lec13 CHO 细胞（Ripka 等人 Arch. Biochem. Biophys. [生物化学与生物物理学集刊] 249:533-545 (1986); 美国专利申请号 US 2003/0157108 A1, Presta, L; 和 WO 2004/056312 A1, Adams 等人），以及敲除细胞系，例如 α-1,6-岩藻糖基转移酶基因 FUT8，敲除 CHO 细胞（参见例如，Yamane-Ohnuki 等人 Biotech. Bioeng.[生物技术和生物工程]87: 614 (2004); Kanda, Y. 等人, Biotechnol. Bioeng.[生物技术和生物工程], 94(4):680-688 (2006); 和 WO2003/085107）。

在某些实施例中，抗体部分具有二等分的寡糖，例如其中附着于抗体的 Fc 区的双触角寡糖被 GlcNAc 二等分。此类抗体变体可以具有减少的岩藻糖基化和/或改善的 ADCC 功能。此类抗体变体的实例描述于例如 WO 2003/011878 (Jean-Mairet 等人); 美国专利号 6,602,684 (Umana 等人); 和 US 2005/0123546 (Umana 等人) 中。还提供了在寡糖上具有至少一个连接至 Fc 区的半乳糖残基的抗体变体。此类抗体变体可以具有改善的 CDC 功能。此类抗体变体描述于例如 WO 1997/30087 (Patel 等人); WO 1998/58964 (Raju, S.); 和 WO 1999/22764 (Raju, S.) 中。

2.7.3 Fc 区变体

在某些实施例中，可将一个或多个氨基酸修饰引入抗体部分的 Fc 区（例如 scFv-Fc）内，从而生成 Fc 区变体。Fc 区变体可包含一个人 Fc 区序列（例如，人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 区），该序列包含在一个或多个氨基酸位置处的氨基酸修饰（例如，取代）。

在某些实施例中，具有一些（但非全部）效应子功能的 Fc 片段，此类功能使该片段成为
5 适合应用的理想候选物，在所述应用中，抗体部分在体内的半衰期很重要，但某些效应子功能（例如，补体和 ADCC）是非必要或有害的。可以进行体外和/或体内细胞毒性测定确认 CDC 和/或 ADCC 活性的降低/消耗。例如，可以进行 Fc 受体（FcR）结合测定确保抗体没有 FcγR 结合能力（因此可能缺乏 ADCC 活性），但可以保留 FcRn 结合能力。用于介导 ADCC 的原代细胞 NK 细胞仅表达 FcγRIII，而单核细胞表达 FcγRI、FcγRII 和 FcγRIII。造血细胞上的
10 的 FcR 表达总结在 Ravetch 和 Kinet, 在 *Annu. Rev. Immunol.*[免疫学年度评论]9:457-492 (1991) 的第 464 页的表 2 中。在美国专利号 5,500,362 中描述了用于评估感兴趣的分子的 ADCC 活性的体外测定的非限制性实例（例如，参见 Hellstrom, I.等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* [美国国家科学院院刊], 83:7059-7063 (1986))以及 Hellstrom, I 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* [美国国家科学院院刊], 82:1499-1502 (1985); 5,821,337（参见 Bruggemann, M.等人, *J. Exp.*
15 *Med.*[实验医学杂志], 166:1351-1361 (1987))。可替代地，可以采用非放射性测定方法（例如，参见用于流式细胞术的 ACTI™非放射性细胞毒性测定（细胞技术公司（CellTechnology, Inc.）山景城（Mountain View）,加利福尼亚州；以及 CytoTox 96®非放射性细胞毒性测定（普洛麦格公司（Promega），麦迪逊，威斯康星州）。用于此类测定的有用的效应细胞包括外周血单核细胞（PBMC）和自然杀伤（NK）细胞。可替代地或另外地，可以在体内评估目的分子的
20 ADCC 活性，例如在动物模型中，如 Clynes 等人, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* [美国国家科学院院刊] 95:652-656 (1998)中披露的。还可以进行 C1q 结合测定确认抗体不能结合 C1q，并且因此缺乏 CDC 活性。例如，参见在 WO 2006/029879 和 WO 2005/100402 中的 C1q 和 C3c 结合 ELISA。为了评估补体活化，可以进行 CDC 测定（参见例如, Gazzano-Santoro 等人, *J. Immunol. Methods* [免疫学方法杂志] 202:163 (1996); Cragg, M.S.等人, *Blood* [血液] 101:1045-1052
25 (2003); 以及 Cragg, M.S.和 M.J. Glennie, *Blood* [血液] 103:2738-2743 (2004))。也可以使用本领域已知的方法进行 FcRn 结合和体内清除/半衰期测定（例如，参见: Petkova, S.B.等人, *Int'l. Immunol.*[国际免疫学] 18(12):1759-1769 (2006))。

具有降低的效应子功能的抗体包括（美国专利号 6,737,056），具有 Fc 区残基 238、265、269、270、297、327 和 329 中的一个或多个的取代的抗体。此类 Fc 突变体包括具有氨基酸
30 位置 265、269、270、297 和 327 中的两个或更多个的取代的 Fc 突变体，包括具有残基 265 和 297 被丙氨酸取代的所谓“DANA” Fc 突变体（美国专利号 7,332,581）。

本文描述了与 FcR 结合提高或降低的某些抗体变体。（参见，例如美国专利号 6,737,056；WO 2004/056312，以及 Shields 等人, *J. Biol. Chem.*[生物化学杂志] 9(2):6591-6604 (2001)。）

在某些实施例中，Fc 片段是 IgG1 Fc 片段。在某些实施例中，IgG1 Fc 片段包含 L234A
35 突变和/或 L235A 突变。在某些实施例中，Fc 片段是 IgG2 或 IgG4 Fc 片段。在某些实施例中，

Fc 片段是包含 S228P、F234A 和/或 L235A 突变的 IgG4 Fc 片段。

在某些实施例中，抗体部分包含具有一个或多个氨基酸取代的 Fc 区，这些取代（例如，Fc 区内的位置 298、333 和/或 334 处的取代（残基的 EU 编号））改善 ADCC。

在某些实施例中，Fc 区内发生改变，导致 C1q 结合和/或补体依赖性细胞毒性（CDC）
5 发生改变（即，提高或降低），例如，如美国专利号 6,194,551、WO 99/51642 和 Idusogie 等人，
J. Immunol.[免疫学杂志], 164:4178-4184 (2000) 中所描述。

在某些实施例中，抗体部分（例如，scFv-Fc）变体包含变体 Fc 区，该变体 Fc 区包含一个或多个改变半衰期和/或改变与新生儿 Fc 受体（FcRn）的结合的氨基酸取代。具有延长的半衰期和与新生儿 Fc 受体(FcRn)的改善的结合的抗体，其负责将母体 IgG 转移至胎儿(Guyer
10 等人，J. Immunol.[免疫学杂志]117:587 (1976)和 Kim 等人，J. Immunol.[免疫学杂志] 24:249
(1994))，如 US2005/0014934A1 中所描述（Hinton 等人）。那些抗体包含具有一个或多个氨基酸取代的 Fc 区，其中这些取代改变了 Fc 区与 FcRn 的结合。此类 Fc 变体包括在一个或多个 Fc 区残基上具有取代（例如 Fc 区残基 434 的取代）的那些变体（美国专利号 7,371,826）。

还参见 Duncan 和 Winter, Nature [自然] 322:738-40 (1988); 美国专利号 5,648,260; 美国
15 专利号 5,624,821; 以及关于 Fc 区变体的其他实例的 WO 94/29351。

2.7.4 半胱氨酸工程化抗体变体

在某些实施例中，可能需要产生半胱氨酸工程化抗体部分，例如“thioMAb”，其中抗体的一个或多个残基被半胱氨酸残基取代。在某些实施例中，取代的残基出现在抗体的可及位点处。通过用半胱氨酸取代那些残基，反应性硫醇基团由此位于抗体的可及位点，并可用于
20 将抗体与其他部分，例如药物部分或接头-药物部分偶联，以产生免疫偶联物，如本文进一步所述。在某些实施例中，以下任何一个或多个残基可以被半胱氨酸取代：重链的 A118（EU 编号）；以及重链 Fc 区的 S400（EU 编号）。半胱氨酸工程化抗体部分可以如例如美国专利号 7,521,541 中所述产生。

2.8 抗体衍生物

在某些实施例中，本文所述的抗体部分可以被进一步修饰以包含本领域已知且容易获得的其他非蛋白质部分。适用于抗体衍生的部分包括但不限于水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实例包括但不限于聚乙二醇（PEG），乙二醇/丙二醇，羧甲基纤维素，葡聚糖，聚乙烯醇，聚乙烯吡咯烷酮，聚-1,3-二氧戊环，聚-1,3,6-三氧杂环己烷，乙烯/马来酸酐共聚物，聚氨基酸（均聚物或无规共聚物）和右旋糖酐或聚(正乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇，丙二醇均
30 聚物，环氧丙烷/环氧乙烷共聚物，聚氧乙烯化多元醇（例如甘油），聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由于在水中的稳定性而在制造中可能具有优势。该聚合物可以具有任何分子量，并且可以是支链或非支链的。连接至抗体的聚合物的数量可以变化，并且如果连接的聚合物多于一种，则它们可以是相同或不同的分子。一般而言，用于衍生化的聚合物的数量和/或类型可以基于以下考虑因素来确定，这些因素包括但不限于待改善抗体的特定性质或功能，是
35 否将抗体衍生物用于确定的诊断条件等。

在某些实施例中，抗体部分可以被进一步修饰以包含一种或多种生物活性蛋白、多肽或其片段。如本文可互换使用的，“生物活性的”或“具有生物学活性的”是指在体内显示出执行特定功能的生物学活性。例如，它可能意味着与特定生物分子（例如蛋白质、DNA 等）结合，然后促进或抑制这种生物分子的活性。在某些实施例中，生物活性蛋白或其片段包括：

- 5 作为活性药物物质施用给患者的蛋白和多肽；用于预防或治疗疾病或病症、以及用于诊断目的蛋白和多肽（例如诊断测试或体外测定中使用的酶）；以及为预防疾病而施用给患者的蛋白质和多肽（例如疫苗）。

2.9 抗体的生产方法

可以使用本领域中任何可用的或已知的技术来产生本文公开的抗体。例如但不限于，可以使用重组方法和组合物产生抗体，例如，如美国专利号 4,816,567 中所述。产生抗体的详细程序在以下实例中描述。

本公开的主题还提供了编码本文公开的抗体的分离的核酸。例如，分离的核酸可以编码包含抗体的 VL 的氨基酸序列和/或包含抗体的 VH 的氨基酸序列，例如抗体的轻链和/或重链。

在某些实施例中，核酸可以存在于一种或多种载体（例如表达载体）中。如本文所用，术语“载体”是指能够转运与其连接的另一种核酸的核酸分子。一种类型的载体是“质粒”，其是指可以将另外的 DNA 区段连接到其中的环状双链 DNA 环。另一种类型的载体是病毒载体，其中可以将另外的 DNA 区段连接到病毒基因组中。某些载体能够在它们被引入至其中的宿主细胞中自主复制（例如，具有细菌复制起点的细菌载体以及附加型哺乳动物载体）。其他载体（例如，非附加型哺乳动物载体）在引入到宿主细胞后被整合到宿主细胞的基因组中，并且从而随着宿主基因组一起复制。此外，某些载体表达载体能够指导它们可操作地连接的基因的表达。一般而言，用于重组 DNA 技术中的表达载体常常为质粒（载体）形式。但是，所公开的主题旨在包括具有等效功能的其他形式的表达载体，例如病毒载体（例如复制缺陷型逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒）。

可以在单个多顺反子表达盒、单个载体的多个表达盒或多个载体中构建本文公开的抗体的不同部分。产生多顺反子表达盒的元件的实例包括但不限于多种病毒和非病毒内部核糖体进入位点（IRES，例如，FGF-1 IRES，FGF-2 IRES，VEGF IRES，IGF-II IRES，NF-kB IRES，RUNX1 IRES，p53 IRES，甲型肝炎 IRES，丙型肝炎 IRES，癌病毒 IRES，口蹄疫病毒 IRES，小核糖核酸病毒 IRES，脊髓灰质炎病毒 IRES 和脑心肌炎病毒 IRES）和可裂解的接头（例如 2A 肽，例如 P2A、T2A、E2A 和 F2A 肽）。逆转录病毒载体和合适的包装线的组合也是合适的，其中衣壳蛋白将具有感染人细胞的功能。已知多种产生两性病毒的细胞系，包括但不限于 PA12（Miller 等人（1985）Mol. Cell.Biol.[分子细胞生物学] 5:431-437）；PA317（Miller 等人（1986）Mol. Cell.Biol.[分子细胞生物学] 6:2895-2902）；和 CRIP（Danos 等人（1988）Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美国国家科学院院刊] 85:6460-6464）。非两亲性颗粒也是合适的，例如用 VSVG、RD114 或 GALV 包膜和本领域中任何其他已知的假型颗粒。

在某些实施例中，可以将编码本公开的抗体的核酸和/或包括该核酸的一种或多种载体引入宿主细胞。在某些实施例中，可以通过本领域已知的任何方法将核酸引入细胞中，这些方法包括但不限于转染，电穿孔，显微注射，用含有核酸序列的病毒或噬菌体载体感染，细胞融合，染色体介导的基因转移，微细胞介导的基因转移，原生质球融合等。在某些实施例中，

5 宿主细胞可以包括，例如，已经用以下载体转化的宿主细胞：该载体包含编码包含单结构域抗体和/或单结构域抗体的 VH 的氨基酸序列的核酸。在某些实施例中，宿主细胞可以包括例如已经用以下转化的宿主细胞：(1) 一种载体，其包含编码包含该抗体的 VL 的氨基酸序列和包含该抗体的 VH 的氨基酸序列的核酸，或 (2) 第一载体，其包含编码该抗体的 VL 的氨基酸序列的核酸，和第二载体，其包含编码该抗体的 VH 的氨基酸序列的核酸。在某些实施例中，

10 中，宿主细胞是真核的，例如中国仓鼠卵巢（CHO）细胞或淋巴样细胞（例如，YO、NSO、Sp20 细胞）。

在某些实施例中，制备本文公开的抗体的方法可以包括在适合于抗体表达的条件下培养其中已经引入了编码抗体的核酸的宿主细胞，以及任选地从宿主细胞和/或宿主细胞培养基中回收抗体。在某些实施例中，通过色谱技术从宿主细胞回收抗体。

15 为了重组产生本公开的抗体，可以分离编码如上所述的抗体的核酸，并将其插入一种或多种载体中，以在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可以使用常规程序（例如，通过使用能够特异性结合编码抗体的重链和轻链的基因的寡核苷酸探针）容易地分离和测序此类核酸。用于克隆或表达编码抗体的载体的合适宿主细胞包括本文所述的原核或真核细胞。例如，可以在细菌中产生抗体，特别是在不需要糖基化和 Fc 效应子功能时。对于在细菌中表达抗体片

20 段和多肽，参见例如，美国专利号 5,648,237、5,789,199 和 5,840,523。（还参见 Charlton, *Methods in Molecular Biology* [分子生物学方法], 第 248 卷 (B.K.C.Lo, 编辑, 哈门那出版社 (Human Press), 托托瓦 (Totowa), 新泽西州 (NJ), 2003), 第 245-254 页，描述了抗体片段在大肠杆菌中的表达) 表达后，可以从细菌细胞糊中分离出可溶级分的抗体，并可以进一步纯化。

除原核生物外，真核微生物（例如丝状真菌或酵母菌）也是适合抗体编码载体的克隆或

25 表达宿主，包括其糖基化途径已被“人源化”的真菌和酵母菌株，从而产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体。参见 Gemgross, *Nat. Biotech.*[自然生物技术] 22:1409-1414 (2004), 和 Li 等人, *Nat. Biotech.*[自然生物技术] 24:210-215 (2006)。用于表达糖基化抗体的合适宿主细胞也可以源自多细胞生物（无脊椎动物和脊椎动物）。无脊椎动物细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已经鉴定出许多杆状病毒株，它们可以与昆虫细胞结合使用，特别是用于转染草地贪夜

30 蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 细胞。在某些实施例中，植物细胞培养物可以用作宿主细胞。参见例如美国专利号 5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978 和 6,417,429（描述了在转基因植物中生产抗体的 PLANTIBODIES™ 技术）。

在某些实施例中，脊椎动物细胞也可以用作宿主。例如但不限于，适于悬浮生长的哺乳动物细胞系可能是有用的。有用的哺乳动物宿主细胞系的非限制性实例是由 SY40 (COS-7)

35 转化的猴肾 CV1 系；人胚胎肾系 (293 或 293 细胞，如例如在 Graham 等人, *J Gen Viral.*[普通

病毒学杂志]36:59 (1977)中描述); 幼仓鼠肾细胞 (BHK); 小鼠塞托利 (sertoli) 细胞 (TM4 细胞, 例如在 Mather, Biol. Reprod.[生殖生物学]23:243-251 (1980)中描述); 猴肾细胞 (CV 1); 非洲绿猴肾细胞 (VERO-76); 人宫颈癌细胞 (HELA); 犬肾细胞 (MDCK; 水牛鼠 (buffalo rat) 肝细胞 (BRL 3A); 人肺细胞 (W138); 人肝细胞 (Hep 02); 小鼠乳房肿瘤 (MMT 060562);

5 TRI 细胞, 例如在 Mather 等人, Annals N. Y. Acad. Sci. [纽约科学院年刊] 383:44-68 (1982)中描述; MRC 5 细胞; 和 FS4 细胞。其他有用的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞, 包括 DHFK CHO 细胞 (Urlaub 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA[美国国家科学院院刊] 77:42 I6 (1980)); 和骨髓瘤细胞系 (例如 YO、NSO 和 Sp2/0)。对于某些适合抗体产生的哺乳动物宿主细胞系的综述, 参见例如, Yazaki 和 Wu, Methods in Molecular Biology [分子生物学方法], 第 248 卷 (B.K.C.Lo 编辑, 哈门那出版社 (Human Press), 托托瓦 (Totowa), 新泽西州 (NJ)), 第 255-268 页 (2003)。

10

在某些实施例中, 用于制备双特异性和/或多特异性抗体的技术包括但不限于重组表达具有相同特异性的两个免疫球蛋白重链轻链对, 其中一个或两个重链或轻链融合至具有不同特异性的抗原结合部分 (例如, 单结构域抗体, 例如 VHH), 具有不同特异性的两个免疫球蛋白重链轻链对的重组共表达 (参见 Milstein 和 Cuello, Nature[自然] 305: 537 (1983)), PCT 专利申请号 WO 93/08829 和 Traunecker 等人, EMBO J [欧洲分子生物学学会杂志] 10: 3655 (1991) 和 “杵臼结构” 工程化 (参见例如, 美国专利号 5,731,168)。双特异性抗体也可以通过工程化静电转向效应来制备, 以制备抗体 Fc-异二聚体分子 (WO 2009/089004A 1); 交联两个或更多个抗体或片段 (参见例如, 美国专利号 4,676,980 和 Brennan 等人, Science [科学], 229: 81

15 白重链轻链对的重组共表达 (参见 Milstein 和 Cuello, Nature[自然] 305: 537 (1983)), PCT 专利申请号 WO 93/08829 和 Traunecker 等人, EMBO J [欧洲分子生物学学会杂志] 10: 3655 (1991) 和 “杵臼结构” 工程化 (参见例如, 美国专利号 5,731,168)。双特异性抗体也可以通过工程化静电转向效应来制备, 以制备抗体 Fc-异二聚体分子 (WO 2009/089004A 1); 交联两个或更多个抗体或片段 (参见例如, 美国专利号 4,676,980 和 Brennan 等人, Science [科学], 229: 81

20 (1985)); 使用亮氨酸拉链产生双特异性抗体 (参见例如, Kostelny 等人, J Immunol.[免疫学杂志], 148(5): 1547-1553 (1992)); 使用“双抗体”技术制备双特异性抗体片段 (参见例如, Hollinger 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美国国家科学院院刊], 90:6444-6448 (1993)); 和使用单链 Fv (sFv) 二聚体 (参见例如, Gruber 等人, J. Immunol.[免疫学杂志], 152:5368 (1994)); 并如例如在 Tutt 等人 J Immunol.[免疫学杂志] 147: 60 (1991)中所述制备三特异性抗体。

25 本公开的双特异性和多特异性分子也可以使用化学技术 (参见, 例如, Kranz (1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美国国家科学院院刊]78:5807)、“多瘤”技术 (参见, 例如, 美国专利 4,474,893) 或重组 DNA 技术制备。还可以使用本领域已知的和本文所述的方法, 通过缀合组成型结合特异性, 例如第一表位和第二表位结合特异性, 来制备当前公开的主题的双特异性和多特异性分子。例如, 但不限于, 双特异性和多特异性分子的每种结合特异性可以通过

30 重组融合蛋白技术一起产生, 或者可以分开产生, 然后彼此缀合。当结合特异性是蛋白质或肽时, 可以使用多种偶联剂或交联剂进行共价结合。交联剂的非限制性实例包括蛋白 A, 碳二亚胺, N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰基-硫代乙酸酯 (SATA), N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯 (SPDP) 和磺基琥珀酰亚胺基 4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸酯 (磺基-SMCC) (参见例如 Karpovsky (1984) J. Exp. Med.[实验医学杂志] 160:1686; Liu (1985) Proc.

35 Natl. Acad. Sci. USA [美国国家科学院院刊] 82:8648)。其他方法包括由 Paulus (Behring

Ins.Mitt.[贝林研究所通报](1985) 第 78 期, 118-132; Brennan (1985) Science [科学] 229:81-83), Glennie (1987) J Immunol.[免疫学杂志] 139: 2367-2375) 描述的那些方法。当结合特异性是抗体(例如,两种人源化抗体)时,它们可以通过两条重链的 C 末端铰链区的巯基键合来缀合。在某些实施例中,在缀合之前,铰链区可以被修饰为包含奇数个(例如一个)巯基残基。

5 在某些实施例中,双特异性抗体的两种结合特异性可以在同一载体中编码,并在同一宿主细胞中表达和组装。当双特异性和多特异性分子是 MAb x MAb, MAb x Fab, Fab x F(ab')₂ 或配体 x Fab 融合蛋白时,此方法特别有用。在某些实施例中,本公开的双特异性抗体可以是单链分子,例如单链双特异性抗体,包含一个单链抗体和结合决定簇的单链双特异性分子或包含两个结合决定簇的单链双特异性分子。双特异性和多特异性分子也可以是单链分子或
10 可以包含至少两个单链分子。制备双特异性分子和多特异性分子的方法描述于例如美国专利号 5,260,203; 美国专利号 5,455,030; 美国专利号 4,881,175; 美国专利号 5,132,405; 美国专利号 5,091,513; 美国专利号 5,476,786; 美国专利号 5,013,653; 美国专利号 5,258,498; 以及美国专利号 5,482,858 中。本文还包括具有三个或更多个功能性抗原结合位点(例如,表位结合位点)的工程化抗体,包括“章鱼抗体”(参见例如 US 2006/0025576A1)。

15 在某些实施例中,动物系统可以用于产生本公开的抗体。用于制备杂交瘤的一种动物系统是鼠系统。

在小鼠中杂交瘤的产生是非常完善建立的程序。用于分离用于融合的经免疫的脾细胞的免疫方案和技术在本领域中是已知的。融合配偶体(例如鼠骨髓瘤细胞)和融合程序也是已知的(参见例如 Harlow 和 Lane (1988), Antibodies, A Laboratory Manual[抗体实验室手册], 纽约州冷泉港冷泉港实验室出版社(Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor New York))。

2.10 测定

本文提供的本公开的抗体可以通过本领域已知的和本文提供的多种测定法对其物理/化学性质和/或生物学活性进行鉴定、筛选或表征。

25 在某些实施例中,可以通过已知方法(例如酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)或蛋白质印迹测定)来测试本公开的抗体的抗原结合活性。这些测定中的每一种通常通过采用特异性针对感兴趣的复合物的经标记的试剂(例如,抗体)来检测特别感兴趣的蛋白-抗体复合物的存在。例如,可以使用例如识别并特异性结合抗体的酶联抗体或抗体片段来检测抗体。可替代地,可以使用多种其他免疫测定中的任何一种来检测抗体。例如,可以将该抗体进行放射性标记并且在放射性免疫测定(RIA)中使用(参见例如, Weintraub, B., Principles of Radioimmunoassays [放射性免疫测定的原则], Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques [关于放射性配体测定技术的第七次培训课程], The Endocrine Society [内分泌学会], 1986 年 3 月, 将其通过引用并入本文)。可以通过这样的手段,如使用盖革(Geiger)计数器或闪烁计数器或通过放射自显影来对放射性同位素进行检测。

在某些实施例中，竞争测定法可用于鉴定与本公开的抗体（例如 1C12、2A3 或 1G1）竞争与 TIGIT 结合的抗体。在某些实施例中，这样的竞争性抗体结合由 1C12、2A3 或 1G1 结合
5 5 的相同表位（例如，线性或构象表位）。Morris (1996) “Epitope Mapping Protocols [表位定位方案],” *Methods in Molecular Biology* [分子生物学方法], 第 66 卷（哈门那出版社（Human Press）, 托托瓦（Totowa）, 新泽西州（NJ））中提供了定位抗体所结合的表位的详细示例性方法。

在竞争测定的非限制性实例中，可以在包含与 TIGIT 结合的第一标记抗体（例如 1C12、2A3 或 1G1）
10 10 和第二未标记抗体的溶液中孵育固定的 TIGIT，测试所述第二未标记抗体与第一抗体竞争与 TIGIT 结合的能力。第二抗体可以存在于杂交瘤上清液中。作为对照，将固定的 TIGIT 在包含第一标记抗体但不包含第二未标记抗体的溶液中孵育。在允许第一抗体与 TIGIT 结合的条件下孵育后，去除过量的未结合抗体，并测量与固定的 TIGIT 相关的标记物的量。如果在测试样品中相比于对照样品的与固定的 TIGIT 相关的标记的量大大减少，则表明第二抗体正在与第一抗体竞争与 TIGIT 的结合。参见 Harlow 和 Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* [抗体实验室手册] 第 14 章纽约州冷泉港冷泉港实验室 (Cold Spring Harbor
15 15 Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

本公开提供了用于鉴定具有生物学活性的其抗 TIGIT 抗体的测定法。生物学活性可以包括例如激活免疫细胞或免疫激活报告基因（例如 NFAT 报告基因）。还提供了在体内和/或体外具有这种生物学活性的抗体。

2.11 免疫缀合物

20 20 本公开的主题还提供了免疫缀合物，其包含与一种或多种检测探针和/或细胞毒性剂（例如化学治疗剂或药物、生长抑制剂、毒素（例如，蛋白毒素，细菌、真菌、植物或动物来源的酶活性毒素、或其片段））或放射性同位素缀合的本文公开的抗体。例如，所公开的主题的抗体或抗原结合部分可以功能性地连接（例如，通过化学偶联、遗传融合、非共价缔合或其他方式）至一个或多个其他结合分子（例如另一种抗体、抗体片段、肽或结合模拟物）。

25 25 在某些实施例中，免疫缀合物是抗体药物缀合物（ADC），其中抗体缀合至一种或多种药物，包括但不限于美登木素生物碱（参见美国专利号 5,208,020、5,416,064 和欧洲专利 EP 0 425 235）；奥瑞他汀（auristatin），例如单甲基奥瑞他汀药物部分 DE 和 DF（MMAE 和 MMAF）（参见美国专利号 5,635,483 和 5,780,588，以及 7,498,298）；尾海兔素（dolastatin）；卡里奇霉素（calicheamicin）或其衍生物（参见美国专利号 5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、
30 30 5,770,701、5,770,710、5,773,001 和 5,877,296；Hinman 等人, *Cancer Res.*[癌症研究] 53:3336-3342 (1993)；和 Lode 等人, *Cancer Res.*[癌症研究] 58:2925-2928 (1998)）；蒽环霉素，如道诺霉素（daunomycin）或阿霉素（doxorubicin）（参见 Kratz 等人, *Current Med Chem.*[现代药物化学] 13:477-523 (2006)；Jeffrey 等人, *Bioorganic & Med. Chem. Letters*[生物有机化学与医药化学通讯] 16:358-362 (2006)；Torgov 等人, *Bioconj.Chem.*[生物共轭化学] 16:717-721 (2005)；Nagy 等人,
35 35 人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* [美国国家科学院院刊] 97:829-834 (2000)；Dubowchik 等人,

Bioorg. & Med. Chem. Letters [生物有机化学与医药化学通讯] 12:1529-1532 (2002); King 等人, J Med. Chem. [医药化学杂志] 45:4336-4343 (2002); 和美国专利号 6,630,579); 甲氨蝶呤; 长春地辛; 紫杉烷, 例如多西他赛、紫杉醇、拉罗他赛、替塞他赛和奥他赛; 单端孢霉烯 (trichothecenes); 和 CC1065。

5 在某些实施例中, 免疫缀合物包含与酶活性毒素或其片段缀合的本文所述的抗体, 所述酶活性毒素或其片段包括但不限于白喉 A 链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素 A 链 (来自铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*))、蓖麻毒蛋白 A 链、相思豆毒蛋白 A 链、蒴莲根毒蛋白 A 链、 α -帚曲毒蛋白、油桐蛋白、香石竹毒蛋白、美洲商陆 (*Phytolaca americana*) 蛋白 (PAPI、PAPII 和 PAP-S)、苦瓜 (*Momordica charantia*) 抑制剂、麻疯树毒蛋白、巴豆毒蛋白、肥皂草 (*Saponaire officinalis*) 抑制剂、多花白树毒蛋白、丝林霉素 (mitogellin)、局限曲菌素 (restrictocin)、酚霉素 (phenomycin)、依诺霉素 (enomycin) 和单端孢菌素 (trichothecenes)。

在某些实施例中, 免疫缀合物包含与放射性原子缀合以形成放射性缀合物的本文所述的抗体。多种放射性同位素可用于生产放射性缀合物。非限制性实例包括 At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹² 和 Lu 的放射性同位素。当将放射性缀合物用于检测时, 15 它可以包括用于闪烁显像研究的放射性原子, 例如 tc99m 或 1123, 或用于核磁共振 (NMR) 成像 (也称为磁共振成像, MRI) 的自旋标记, 例如碘 123、碘 131、钆 11、氟 19、碳 13、氮 15、氧 17、钆、锰或铁。

可以使用多种双功能蛋白偶联剂 (例如, N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶二巯基) 丙酸酯 (SPDP)、琥珀酰亚胺基-4-(N-马来酰亚胺甲基) 环己烷-1-羧酸酯 (SMCC)、亚氨基硫烷 (IT)、20 亚氨酸酯的双功能衍生物 (如二甲基己二亚氨酸酯 HCl)、活性酯 (如辛二酸二琥珀酰亚胺酯)、醛类 (如戊二醛)、双叠氮化合物 (如双(对叠氮苯甲酰基) 己二胺)、双重氮衍生物 (如双-(对重氮苯甲酰基)-乙二胺)、二异氰酸酯 (如甲代亚苯基 2,6-二异氰酸酯)、和双活性氟化合物 (如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯)) 制备抗体和细胞毒性剂的缀合物。例如, 可以如 Vitetta 等人, Science [科学], 238: 1098 (1987) 描述的制备蓖麻毒蛋白免疫毒素。碳 4-标记的 1-异硫氰酸基苄基-3-甲基二亚乙基三胺-五乙酸 (MX-DTPA) 是用于将放射性核苷酸与抗体缀合的示例性螯合剂。参见 WO94/11026。接头可以是促进细胞中细胞毒性药物释放的“可切割接头”。例如, 可以使用酸不稳定性接头、肽酶敏感性接头、光不稳定性接头、二甲基接头或含二硫化物的接头 (Chari 等人, Cancer Res. [癌症研究] 52:127-131 (1992); 美国专利号 5,208,020)。

本文的免疫缀合物或 ADC 明确涵盖但不限于用交联剂制备的此类缀合物, 包括但不限于 30 可商购的 BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC、和磺基-SMPB、和 SVSB (琥珀酰亚胺基-(4-乙烯基砜) 苯甲酸酯) (例如, 来自美国伊利诺伊州罗克福德的皮尔斯生物技术公司 (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A))。

35 3. 使用方法

本公开的主题进一步提供了使用公开的抗体（例如抗 TIGIT 抗体）的方法。在某些实施例中，这些方法涉及当前公开的抗体的治疗用途。在某些实施例中，这些方法涉及当前公开的抗体的诊断用途。

3.1 治疗方法

5 本公开提供了本文公开的任何抗体（例如，抗 TIGIT 抗体）用于治疗疾病和病症或用于增强免疫应答的方法和用途。在某些实施例中，可以将抗体和/或包含本文公开的抗体的药物组合物施用于受试者（例如哺乳动物（例如人））以治疗疾病和病症或增加免疫应答。在某些实施例中，这些疾病和病症涉及免疫检查点抑制和/或异常的 TIGIT 活性。在某些实施例中，可以通过本文公开的抗体治疗的疾病和病症包括但不限于瘤形成（例如癌症）。

10 在某些实施例中，本公开提供了本文所述的抗 TIGIT 抗体（或其片段），用于制造药物。在某些实施例中，本公开提供了本文所述的抗 TIGIT 抗体（或其片段），用于制造用于治疗癌症的药物。在某些实施例中，本公开提供了本文所述的抗 TIGIT 抗体（或其片段），用于治疗受试者的癌症。在某些实施例中，本公开提供了包含本文提供的抗 TIGIT 抗体（或其片段）的药物组合物，用于治疗受试者的癌症。在某些实施例中，癌症可以是血液癌（例如白血病、
15 淋巴瘤和骨髓瘤）、卵巢癌、乳腺癌、膀胱癌、脑癌、结肠癌、肠癌、肝癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、皮肤癌、胃癌、胶质母细胞瘤、喉癌、黑素瘤、神经母细胞瘤、腺癌、神经胶质瘤、软组织肉瘤和多种癌（包括前列腺癌和小细胞肺癌）。合适的癌还包括肿瘤学领域中的任何已知癌，包括但不限于星形细胞瘤、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肪肉瘤、少突神经胶质瘤、室管膜细胞瘤、成神经管细胞瘤、原始神经外胚层肿瘤（PNET）、软骨肉瘤、骨源性肉瘤、
20 胰腺导管腺癌、小细胞和大细胞肺腺癌、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、鳞状细胞癌、支气管肺泡癌、上皮腺癌、和其肝转移瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、肝癌、胆管癌、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌、基底细胞癌、汗腺瘤、乳头状癌、皮脂腺癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管癌、肾细胞癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、肾母细胞瘤、睾丸瘤、成神经管细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管
25 细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、成神经细胞瘤、视网膜母细胞瘤、白血病、多发性骨髓瘤、华氏巨球蛋白血症（Waldenstrom's macroglobulinemia）、乳腺肿瘤（如导管腺癌和小叶腺癌）、子宫颈鳞状上皮和腺癌、子宫上皮癌和卵巢上皮性癌、前列腺腺癌、膀胱移行性鳞状细胞癌、B 和 T 细胞淋巴瘤（结节性和弥散性）、浆细胞瘤、急性和慢性白血病、恶性黑色素瘤、软组织肉瘤和平滑肌肉瘤。

30 在某些实施例中，癌症可以是黑素瘤、NSCLC、头颈癌、尿路上皮癌、乳腺癌（例如，三阴性乳腺癌、TNBC）、胃癌、胆管癌、经典型霍奇金淋巴瘤（cHL）、非霍奇金淋巴瘤原发性纵隔 B-细胞淋巴瘤（NHL PMBCL）、间皮瘤、卵巢癌、肺癌（例如，小细胞肺癌）、食管癌、鼻咽癌（NPC）、胆道癌、结肠直肠癌、宫颈癌或甲状腺癌。

在某些实施例中，待治疗的受试者是哺乳动物（例如，人，非人灵长类、大鼠、小鼠、
35 牛、马、猪、绵羊、山羊、狗、猫等）。在某些实施例中，受试者是人。在某些实施例中，受

试者疑似患有癌症或有患癌症的风险、或被诊断患有具有异常 TIGIT 表达或活性的癌症或任何其他疾病。

表现出异常的 TIGIT 活性的许多癌症或任何其他疾病的诊断方法以及这些疾病的临床描述是本领域已知的。此类方法包括但不限于例如免疫组织化学、PCR、荧光原位杂交 (FISH)。

5 关于异常 TIGIT 活性或表达的诊断方法的其他细节描述于例如 Gupta 等人, (2009) *Mod Pathol.*[现代病理学]22(1): 128-133; Lopez-Rios 等人 (2013) *J Clin Pathol.*[临床病理学杂志]66(5): 381-385; Ellison 等人 (2013) *J Clin Pathol* [临床病理学杂志] 66(2): 79-89; And 以及 Guha 等人 (2013) *PLoS ONE* [公共科学图书馆·综合] 8(6): e67782 中。

10 可以通过任何合适的途径施用, 包括例如静脉内、肌内或皮下。在一些实施例中, 本文提供的抗 TIGIT 抗体(或其片段)和/或组合物与第二、第三或第四药剂(包括例如抗肿瘤药、生长抑制剂, 细胞毒性剂或化学治疗剂)组合施用, 以治疗涉及异常 TIGIT 活性的疾病或失调。这类药剂包括例如多西他赛、吉非替尼、FOLFIRI (伊立替康、5-氟尿嘧啶和亚叶酸)、伊立替康、顺铂、卡铂、紫杉醇、贝伐单抗(抗 VEGF 抗体)、FOLFOX-4、输注氟尿嘧啶、亚叶酸和奥沙利铂、阿法替尼、吉西他滨、卡培他滨、培美曲塞、替万替尼、依维莫司、CpG-ODN、
15 雷帕霉素、来那度胺、维罗非尼、内皮抑素、拉帕替尼、PX-866、Imprime PGG 和伊洛替尼。在一些实施例中, 将抗 TIGIT 抗体(或其片段)缀合至另外的药剂。

在某些实施例中, 本文提供的抗 TIGIT 抗体(或其片段)和/或组合物与一种或多种其他疗法(例如放射疗法、手术、化学疗法、和/或靶向疗法)组合施用。在某些实施例中, 本文提供的抗 TIGIT 抗体(或其片段)和/或组合物与放射疗法组合施用。在某些实施例中, 本文
20 提供的抗 TIGIT 抗体(或其片段)和/或组合物与放射疗法的组合用于治疗本文公开的赘生物或癌症。

取决于待治疗的适应症和本领域技术人员熟悉的与给药相关的因素, 本文提供的抗 TIGIT 抗体或其片段将以在最小化毒性和副作用的同时有效治疗该适应症的剂量施用。对于癌症的治疗, 典型的剂量可以是例如在 0.001 至 1000 μg 的范围内; 然而, 低于或高于该示例性范围的剂量在本发明的范围内。日剂量可以是总体重的约 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 100 mg/kg , 总体
25 重的约 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 或总体重的约 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至约 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。如上提到的, 可以通过定期评估治疗的患者来监测治疗或预防功效。对于经若干天或更长时间的重复施用, 取决于病症, 重复进行治疗直至发生所希望的疾病症状抑制。然而, 其他剂量方案可能是有用的并且在本发明的范围内。所希望的剂量可通过单次推注施用组合物、通过多次推注施用组
30 合物、或通过连续输注施用组合物来递送。

包含抗 TIGIT 抗体或其片段的药物组合物可以每天一次、两次、三次或四次施用。组合物也可以以低于每日施用的频率进行施用, 例如, 每周六次、每周五次、每周四次、每周三次、每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次、每月一次、每两个月一次、每三个月一次或每六个月一次。组合物也可以例如在植入物中以缓释配制品施用, 该植入物逐渐释放
35 该组合物以在一段时间内使用, 并且允许该组合物以较低频率施用, 例如每月一次、每 2-6

个月一次、每年一次、或甚至单次施用。缓释装置（例如圆粒剂型（pellet）、纳米颗粒、微粒、纳米球、微球等）可以通过注射进行施用。

抗体（或其片段）可以以单次日剂量施用，或者总日剂量可以以每日两次、三次或四次的分剂量施用。组合物也可以以低于每日施用的频率进行施用，例如，每周六次、每周五次、
5 每周四次、每周三次、每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次、每月一次、每两个月一次、每三个月一次或每六个月一次。抗体（或其片段）也可以例如在植入物中以缓释配制品施用，该植入物逐渐释放该组合物以在一段时间内使用，并且允许该组合物以较低频率施用，例如每月一次、每 2-6 个月一次、每年一次、或甚至单次施用。缓释装置（例如圆粒剂型（pellet）、纳米颗粒、微粒、纳米球、微球等）可以通过注射或手术植入各种位置进行
10 施用。

可以通过例如但不限于肿瘤消退、肿瘤重量或尺寸缩小、进展时间、存活持续时间、无进展存活、总体反应率、应答持续时间、生活质量、蛋白质表达和/或活性来评估癌症治疗。可以采用确定疗法功效的方法，包括例如通过放射成像测量反应。

在某些实施例中，将治疗功效测量为肿瘤生长抑制百分比（% TGI），使用等式 $100 - (T/C \times 100)$ 进行计算，其中 T 是治疗的肿瘤的平均相对肿瘤体积，并且 C 是未治疗的肿瘤的平均
15 相对肿瘤体积。在某些实施例中，%TGI 是约 10%、约 20%、约 30%、约 40%、约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%、约 91%、约 92%、约 93%、约 94%、约 95%、或多于 95%。

3.2 诊断和成像方法

经标记的抗 TIGIT 抗体、其片段，以及其衍生物和类似物可用于诊断目的，以检测、诊
20 断或监测与 TIGIT 的表达、异常表达和/或活性相关的疾病和/或障碍。例如，本文提供的抗 TIGIT 抗体（或其片段）可以用于原位、体内、离体和体外诊断测定或成像测定。用于检测 TIGIT 多肽表达的方法，包括 (a) 使用本发明的一种或多种抗体测定多肽在个体的细胞（例如组织）或体液中的表达，和 (b) 比较该基因表达水平和标准基因表达水平，其中与标准表达水平相比，测定的基因表达水平的增加或减少指示异常表达。

本文提供的另外的实施例包括在动物（例如哺乳动物，如人）中诊断与 TIGIT 的表达或
25 异常表达相关的疾病或障碍的方法。这些方法包含在哺乳动物中检测 TIGIT 分子。在某些实施例中，诊断包括：(a) 向哺乳动物施用有效量的经标记的抗 PD-1 抗体（或其片段）；(b) 在施用后等待一段时间间隔，以允许经标记的抗 TIGIT 抗体（或其片段）优先浓缩在受试者的表达 TIGIT 分子的部位（并且将未结合的经标记的分子清除至背景水平）；(c) 确定背景水平；
30 和 (d) 检测受试者中经标记的分子，使得检测到高于背景水平的经标记的分子指示受试者患有与 TIGIT 表达或异常表达相关的特定疾病或障碍。背景水平可以通过不同方法确定，这些方法包括将所检测到的标记的分子的数量与先前针对一个具体系统确定的标准值进行对比。

本文提供的抗 TIGIT 抗体（或其片段）可以用于使用本领域技术人员已知的经典免疫组
35 织学方法来测定生物样品中蛋白质水平（例如，参见 Jalkanen 等人, J. Cell. Biol.[细胞生物学杂志] 101:976-985 (1985); Jalkanen 等人, J. Cell. Biol.[细胞生物学杂志] 105:3087-3096 (1987)）。

5 有用于检测蛋白质基因表达的其他基于抗体的方法包括免疫测定，例如酶联免疫吸附测定（ELISA）和放射免疫测定（RIA）。合适的抗体测定标记是本领域中已知的并且包括酶标记（例如葡萄糖氧化酶）；放射性同位素，例如碘（¹³¹I、¹²⁵I、¹²³I、¹²¹I）、碳（¹⁴C）、硫（³⁵S）、氚（³H）、铟（^{115m}In、^{113m}In、¹¹²In、¹¹¹In）、以及锝（⁹⁹Tc、^{99m}Tc）、钛（²⁰¹Ti）、镓（⁶⁸Ga、⁶⁷Ga）、钯（¹⁰³Pd）、钼（⁹⁹Mo）、氙（¹³³Xe）、氟（¹⁸F）、¹⁵³Sm、¹⁷⁷Lu、¹⁵⁹Gd、¹⁴⁹Pm、¹⁴⁰La、¹⁷⁵Yb、¹⁶⁶Ho、⁹⁰Y、⁴⁷Sc、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、¹⁴²Pr、¹⁰⁵Rh、⁹⁷Ru；鲁米诺；以及荧光标记（例如荧光素及罗丹明及生物素）。

本领域已知的技术可以应用于本文提供的经标记的抗体（或其片段）。此类技术包括但不限于使用双功能缀合剂（参见例如，美国专利号 5,756,065；5,714,631；5,696,239；5,652,361；
10 5,505,931；5,489,425；5,435,990；5,428,139；5,342,604；5,274,119；4,994,560；和 5,808,003）。

可替代地，或另外地，可以测量细胞中编码 TIGIT 多肽的核酸或 mRNA 的水平，例如经由使用对应于编码 EGFR 的核酸或其互补序列的基于核酸的探针的荧光原位杂交；（FISH；参见 1998 年 10 月公布的 WO 98/45479），DNA 印迹法、RNA 印迹法或聚合酶链反应（PCR）技术，例如实时定量 PCR（RT-PCR）。还可以通过测量生物流体（例如血清）中的脱落抗原
15 来研究 TIGIT 过表达，例如使用基于抗体的测定（还参见，例如，1990 年 6 月 12 日发布的美国专利号 4,933,294；1991 年 4 月 18 日发布的 WO 91/05264；1995 年 3 月 28 日发布的美国专利号 5,401,638；以及 Sias 等人, *J. Immunol. Methods* [免疫方法杂志] 132:73-80 (1990)）。除了上述测定之外，本领域技术人员可获得各种体内和离体测定。例如，可以将哺乳动物体内的细胞暴露于抗体，该抗体任选地用可检测标记（例如放射性同位素）进行标记，并且可以
20 例如通过外部扫描放射性或者通过分析取自先前暴露于该抗体的哺乳动物的样品（例如，活体标本检查或其他生物样品）来评估抗体与细胞的结合。

4. 药物配制品

本公开的主题还提供了包含一种或多种本文公开的抗体以及药学上可接受的载剂的药物配制品。在某些实施例中，药物组合物可以包含当前公开的主题的多种（例如，两种或更多
25 种）抗体和/或其抗原结合部分的组合。在某些实施例中，本公开的药物组合物可以包含一种或多种抗 TIGIT 抗体。

在某些实施例中，所公开的药物配制品可以通过将具有所需纯度的抗体与一种或多种任选的药学上可接受的载剂（Remington's Pharmaceutical Sciences [雷明顿药物科学]，第 16 版，Osol, A. 编辑 (1980)）组合以冻干配制品或水溶液的形式来制备。例如但不限于，冻干抗体配
30 制品在美国专利号 6,267,958 中描述。在某些实施例中，水性抗体配制品可以包括在美国专利号 6,171,586 和 WO2006/044908 中描述的那些，后者的配制品包括组氨酸-乙酸盐缓冲液。在某些实施例中，抗体可以具有大于约 80%，大于约 90%，大于约 91%，大于约 92%，大于约 93%，大于约 94%，大于 95%，大于约 96%，大于约 97%，大于约 98%，大于约 99%，大于约 99.1%，大于约 99.2%，大于约 99.3%，大于约 99.4%，大于约 99.5%，大于约 99.6%，大
35 于约 99.7%，大于约 99.8%或大于约 99.9%的纯度。

药学上可接受的载剂通常在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒，并且包括但不限于：缓冲液（例如磷酸盐、柠檬酸盐、以及其他有机酸）；包括抗坏血酸和甲硫氨酸的抗氧化剂；防腐剂（例如氯化十八烷基二甲基苄基铵；氯化六甲铵；氯化苄烷铵、氯化苄乙铵；苯酚、丁醇或苯甲醇；烷基对羟苯甲酸酯（例如甲基或丙基对羟苯甲酸酯）；邻苯二酚；间苯二酚；5 环己醇；3-戊醇；以及间甲酚）；低分子量（少于约 10 个残基）多肽；蛋白，例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，例如聚乙烯吡咯酮；氨基酸，例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸、或赖氨酸；单糖、二糖、以及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖、或糊精；螯合剂，例如 EDTA；糖，例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成盐的计数离子，例如钠；金属络合物（例如 Zn-蛋白络合物）；和/或非离子型表面活性剂，例如聚乙二醇（PEG）。本文中的示例性药学上可接受的载剂还包括间质药物分散剂，例如可溶性中性活性透明质酸酶糖蛋白（sHASEGP），例如人可溶性 PH-20 透明质酸酶糖蛋白，例如 rHuPH20（HYLENEX®，Baxter International 公司）。在美国专利公开号 2005/0260186 和 10 2006/0104968 中描述了某些示例性的 sHASEGP 和使用方法，包括 rHuPH20。在某些实施例中，sHASEGP 与一种或多种另外的糖胺聚糖酶（例如软骨素酶）组合。

15 载剂可以适合于静脉内、肌内、皮下、肠胃外、脊柱或表皮施用（例如，通过注射或输注）。根据施用途径，可以将活性化合物（即抗 TIGIT 抗体）包被在一种材料中，以保护该化合物免受酸和其他可使化合物失活的自然条件的影响。

本公开的药物组合物也可以组合治疗，即与其他药剂组合施用。在某些实施例中，本文所公开的药物组合物还可以包含一种或多种活性成分，这对于所治疗的特定适应症是必需的，20 例如，具有互补活性且不会产生互相不利影响的那些。在某些实施例中，药物配制品可包含用于治疗由第一治疗剂治疗的相同疾病的第二活性成分。此类活性成分合适地以对于预期目的有效的量组合存在。例如但不限于，本公开的配制品还可以包含一种或多种活性成分，这对于所治疗的特定适应症是必要的，优选地是那些具有互补活性且不会产生互相不利影响的活性成分。例如，可能期望进一步提供可用于治疗相同疾病的第二治疗剂。此类活性成分合适地以对于预期目的有效的量组合存在。25

本公开的组合物可以通过本领域已知的多种方法施用。施用途径和/或方式取决于所需结果。这些活性化合物可以用保护该化合物以便避免快速释放的载剂来制备，例如一种受控释放配制品，包括植入物、经皮贴片以及微囊化递送系统。可以使用生物可降解、生物相容的聚合物，如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯、以及聚乳酸。制备这类配制品的许多方法由例如 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems [缓释和控释药物递送系统]，J.R.Robinson,编辑，马塞尔德克尔公司，纽约，1978 描述。在某些实施例中，药物组合物是在美国食品和药物管理局（U.S. Food and Drug Administration）的优质生产规范（Good Manufacturing Practice（GMP））条件下生产的。30

也可以制备含有所公开的抗体的缓释制剂。持续释放制剂的适合的实例包括含有抗体的35 固体疏水聚合物的半透性基质，该基质处于成型制品的形式（例如薄膜或微胶囊）。在某些实

施例中，可以将活性成分包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中，例如分别在胶体药物递送系统中（例如，脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊）或在粗乳液中的羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊。此类技术披露于 Remington's Pharmaceutical Sciences [雷明顿药物科学]，第 16 版, Osol, A. 编辑 (1980) 中。

5 为了通过某些施用途径施用本公开的抗体，可能有必要用防止其失活的材料包被该化合物或与该化合物共同施用。例如，可以在合适的载剂（例如脂质体）或稀释剂中将化合物施用给受试者。药学上可接受的稀释剂包括盐水和缓冲水溶液。脂质体包括水包油包水型 CGF 乳剂以及常规脂质体（Strejan 等人 (1984) J Neuroimmunol.[神经免疫学杂志] 7:27）。

10 药学上可接受的载剂包括无菌水溶液或分散液以及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。使用此类介质和试剂用于药物活性的物质是本领域中已知的。

除非任何常规介质或药剂与活性化合物不相容，否则可考虑将其用于本公开的药物组合物中。还可以将补充性活性化合物掺入组合物中。

15 治疗组合物通常必须是无菌的、基本等渗的，并且在生产和储存条件下是稳定的。该组合物可以配制为一种溶液、微乳液、脂质体，或适合于高药物浓度的其他有序结构。该载剂可以是含有以下物质的溶剂或分散介质：例如，水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇、和液体聚乙二醇等），以及其适合的混合物。恰当的流动性可以（例如）通过使用包衣（如卵磷脂）来维持，在分散体的情况下通过维持所需的颗粒大小来维持，以及通过使用表面活性剂来维持。在许多情况下，在组合物中包括等张剂，例如糖、多元醇（如甘露糖醇、山梨糖醇）或氯化钠将为优选的。可以通过在该组合物中包括例如单硬脂酸盐以及明胶的一种延迟
20 吸收的药剂来实现这些可注射组合物的延长的吸收。

无菌注射溶液可通过将所需量的一种或多种公开的抗体根据需要与合适的溶剂与上面列举的一种或多种成分的组合掺入，然后进行灭菌微滤（例如通过无菌滤膜过滤）来制备。通常，分散液通过以下方式制备：

25 将活性化合物掺入无菌媒介物中，该无菌媒介物含有基础分散介质和来自以上列举的那些的其他所需成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下，优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥（冻干），所述方法从其先前的无菌过滤溶液中产生活性成分和任何其他所希望的成分的粉末。

还可以用本领域已知的医学装置来施用治疗性组合物。

30 例如，本发明的治疗组合物可以与无针皮下注射装置一起施用，例如在美国专利号 5,399,163、5,383,851、5,312,335、5,064,413、4,941,880、4,790,824 或 4,596,556 中公开的装置。可用于本公开的植入物和模块的实例包括：美国专利号 4,487,603，其公开了一种用于以受控的速率分配药物的植入式微输液泵；美国专利号 4,486,194，其公开了一种用于通过皮肤施用药物的治疗装置；美国专利号 4,447,233，其公开了一种用于以精确的输注速率输送药物的药物输注泵；美国专利号 4,447,224，其公开了一种用于连续药物输送的可变流量可植入输
35 注设备；美国专利号 4,439,196，其公开了一种具有多室隔室的渗透药物递送系统；以及美国

专利号 4,475,196, 其公开了一种渗透药物输送系统。已知许多其他此类植入物、递送系统和模块。

对于治疗组合物, 本公开的配制品包括适于口服、经鼻、局部(包括经颊和经舌下)、直肠、阴道和/或肠胃外施用的那些配制品。这些配制品可以方便地以单位剂量形式存在并且可以通过药学领域众所周知的任何方法制备。可以与载剂材料组合以产生单一剂型的抗体的量根据所治疗的受试者和特定的施用方式而变化。可以与载剂材料结合以产生单一剂型的抗体的量通常是产生治疗效果的组合物的量。通常, 以百分数计, 这个量的范围是从约 0.01% 至约 99% 的活性成分, 从约 0.1% 至约 70%, 或从约 1% 至约 30%。

用于局部或经皮施用本公开的组合物的剂型包括散剂、喷雾剂、软膏剂、糊剂、乳膏剂、洗剂、凝胶剂、溶液、贴剂和吸入剂。可以将活性化合物在无菌条件下与药学上可接受的载剂和可能需要的任何防腐剂、缓冲剂或推进剂混合。

短语“肠胃外施用”和“经肠胃外施用”是指除了肠施用和局部施用之外的、通常通过注射的施用模式, 并且包括但不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、硬膜外以及胸骨内注射和输注。

这些药物组合物还可以含有辅助剂, 例如防腐剂、润湿剂、乳化剂、和分散剂。预防存在微生物可以通过上述灭菌程序, 以及通过包含不同抗细菌和抗真菌剂, 例如对羟苯甲酸酯(paraben)、氯代丁醇、苯酚山梨酸等来确保。可能还希望将等渗剂, 例如糖、氯化钠等包括于这些组合物中。此外, 通过包括延迟吸收的试剂, 例如单硬脂酸铝和明胶可以引起可注射药物形式的延长吸收。

在某些实施例中, 当将本公开的抗体作为药物施用给人和动物时, 它们可以单独或与药学上可接受的载剂组合的作为药物组合物给予, 所述药物组合物包含例如约 0.01% 至约 99.5% (或约 0.1% 至 90%) 的本文所述的抗体。

5. 制品

当前公开的主题还提供一种制品, 该制品包含可用于治疗、预防和/或诊断上述疾病的材料。

在某些实施例中, 制品包括容器以及在容器上或与容器相关联的标签或包装插入物。合适的容器的非限制性实例包括瓶、小瓶、注射器、IV 溶液袋等。容器可以由多种材料(例如玻璃或塑料)形成。容器可以容纳(本身或与另一种组合物组合)有效治疗、预防和/或诊断病症的组合物, 并且可具有无菌入口(例如, 容器可以是静脉内溶液袋或具有可由皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。

在某些实施例中, 组合物中的至少一种活性剂是当前公开的主题的抗体。标签或包装插入物可指示该组合物用于治疗所选病症。

在某些实施例中, 该制品可以包括 (a) 第一容器, 该第一容器中装有组合物, 其中该组合物包含本发明的抗体; 以及 (b) 第二容器, 其中装有组合物, 其中该组合物包含其他细胞

毒性或治疗剂。在某些实施例中，所述制品可以进一步包含包装插入物，其指示所述组合物可以用于治疗特定病症。

- 可替代地或另外地，制品可以进一步包括另外的容器，例如第二或第三容器，其包括药学上可接受的缓冲剂，例如但不限于注射用抑菌水（BWFI），磷酸盐缓冲盐水，林格氏溶液和右旋糖溶液。该制品可以包括从商业和用户角度所希望的其他材料，包括其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针头和注射器。

序列表

SEQ ID NO	基因名称	序列
1.	4A11 CDR1	GRPFSNYT
2.	4A11 CDR2	AWPSPST
3.	4A11 CDR3	AADYKSLTQSWLNAALDY
4.	4A11 VHH	QVKLEESGGGEAQPGGSLRLSCTASGRPFSNYTMGWFRRAPGKEREFVGL AWPSPSTYVDSVKGRFTISRDNANTYIYLMNSLKPEDTAIYYCAADYK SLTQSWLNAALDYWGQGTQVTVSS
5.	4B5 CDR1	PRTFSTFH
6.	4B5 CDR2	FNWSGGRT
7.	4B5 CDR3	AAARDRGLHDGTTSDSYLEGSHEYEY
8.	4B5 VHH	QVKLEESGGRSVLAGGSLRLRCAGTPRTFSTFHIGWFRQAPGKEREFVAAF NWSGGRTYYADSVKGRFTISRNNNGKNMVYLMQMTSLTPEDTGLYYCAAAR DRGLHDGTTSDSYLEGSHEYEYWGQGTQVTVSS
9.	4C5 CDR1	GRSVSTYF
10.	4C5 CDR2	IDRGSTVT
11.	4C5 CDR3	AAKAITRNFIATNDYDY
12.	4C5 VHH	QVQLVDSGGGLVQAGGSLRLSCAVSGRSVSTYFVGVWFRQAPGKEREFVA AIDRGSTVTRYDDSVKGRFTISRDNADTVYLMNSLKPEDTAVYYCAA KAITRNFIATNDYDYWGQGTQVTVSS
13.	4D5 CDR1	GRAFNEYA
14.	4D5 CDR2	ISSDGRFT
15.	4D5 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
16.	4D5 VHH	VDSGGGAVKAGDSLRLVCSAPGRTHGRAFNEYAMAWFRQGPGERESV AAISSDGRFTYYAASVKGRFTISKDNAKSA AFLQMNLSLKPEDTAVYYCAA RDSGSGYYSRAQWYDYWGQGTQVTVSS
17.	4D11 CDR1	GSISSINA
18.	4D11 CDR2	ITNSGST
19.	4D11 CDR3	TARRSTWYIS
20.	4D11 VHH	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSINAMGWYRLAPGKHREFVADI TNSGSTNYAASVKGRFNISRDNADTVYLMNSLKFEDTAVYYCTARRST WYISSGRGTQVTVSS
21.	4E5 CDR1	GLTSSDIA
22.	4E5 CDR2	ISSDGRFT
23.	4E5 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
24.	4E5 VHH	QVQLVDSGGGVVEVGASLTLSCETSGLTSSDIAVGWFRQGPGERESVAAI SSDGRFTYYAASVKGRFTISKDNAKSA AFLQMNLSLKPEDTAVYYCAARDS GSGYYSRAQWYDYWGQGTQVTVSS
25.	4H6 CDR1	GTIFRLNR
26.	4H6 CDR2	TIWGRRT
27.	4H6 CDR3	NYRRITPWEASGNY
28.	4H6 VHH	QVQLVESGGGLATAGASLILSCAASGTIFRLNRMGWFRQAPGKERERVAA TIWGRRTHYADSVKGRFTISTDNAKKTIVYLRMSSLKPEDTAVYYCNYRR ITPWEASGNYWGQGTQVTVSS

29.	4H9 CDR1	GPIARSRS
30.	4H9 CDR2	AAISSDGRFT
31.	4H9 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
32.	4H9 VHH	QVQLVESGGGAVQAGGSLRLSCTASGPIARSRSTGMGWFRQGPGRKERSV AAISSDGRFTYYAASVKGRFTISKDNAKSA AFLQMNSLKPEDTAVYYCAA RDSGSGYYSRAQWYDYWGQGTQVTVSS
33.	10H5 CDR1	ETTFKSMA
34.	10H5 CDR2	TNYNGGRT
35.	10H5 CDR3	AAKATEGTTFPSRTYEF
36.	10H5 VHH	GGGLVQAGGSLRLACTASDPPFANYETTFKSMAMGWVRHIPGKERELVA ATNYNGGRTWYSNSAKARSTISRDNANTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAA KATEGTTFPSRTYEFWGQGIQVTVSS
37.	12H7 CDR1	GNFLSVSD
38.	12H7 CDR2	VTEHGRT
39.	12H7 CDR3	KASDVFTDAGAHEAVLIRDY
40.	12H7 VHH	QVQLVDSGGGLVQAGGSLRLSCKVSGNFLSVSDMSWYRQAPGMERDVV ATVTEHGRTTYTDSVKGRFTISRDNAEHTTYLEMNNLKPEDTAVYFCKAS DVFTDAGAHEAVLIRDYWGQGTQVTVSS
41.	13H11 CDR1	GLTFSMYA
42.	13H11 CDR2	ISSDGRFT
43.	13H11 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
44.	13H11 VHH	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASGLTFSMYAMGWFRQGPGRKERSVA AISSDGRFTYYAASVKGRFTISKDNAKSA AFLQMNSLKPEDTAVYYCAAR DSGSGYYSRAQWYDYWGQGTQVTVSS
45.	15A5 CDR1	ERTFSSFA
46.	15A5 CDR2	IDPSGRYI
47.	15A5 CDR3	AARIRGEGYYTRSSFYHY
48.	15A5 VHH	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASERTFSSFAMGWFRQAPGKEREVVA AIDPSGRYIYYKDSVKGRFTMSRDNASTVY LQMNSLKPDDTARYYYCAA RIRGEGYYTRSSFYHYWGQGTQVTVSS
49.	2B7 CDR1	GRTFSSYP
50.	2B7 CDR2	ISSDGRFT
51.	2B7 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
52.	2B7 VHH	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLA CAASGRTFSSYPMGWFRQGPGRKERSVA AISSDGRFTYYAASVKGRFTISKDNAKSA AFLQMNSLKPEDTAVYYCAAR DSGSGYYSRAQWYDYWGQGTQVTVSS
53.	2B10 CDR1	SRIFRRYA
54.	2B10 CDR2	ITWSGAST
55.	2B10 CDR3	AADPWGSVIVGTAEYEY
56.	2B10 VHH	QVKLEESGGGLVQTGDSLRLS CAASSRIFRRYAMGWFRQAPGKEREFVAA ITWSGASTTYTDSVKGRFTISRDSAENTTYLQMTSLRPEDTAVYYCAADP WGSVIVGTAEYEYWGQGTQVTVSS
57.	3F10 CDR1	EHTFSNFP
58.	3F10 CDR2	IDSSGRLT
59.	3F10 CDR3	AARTGGVGYYSRSSFYNY
60.	3F10 VHH	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CASSEHTFSNFPMGWFRQAPGKERNVVA AIDSSGRLTYADSVKGRFTISKDNAKSTVY LQMNSLKS EDTARYYYCAAR TGGVGYYSRSSFYNYWGQGTQVTVSS
61.	3G6 CDR1	GSIFGISV
62.	3G6 CDR2	LTRAGLT
63.	3G6 CDR3	HANIMESAASTFGRY
64.	3G6 VHH	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASGSIFGISVMGWYRQAPGEQRDLVAT LTRAGLTTYGDSVKGRFSISRDSA KNTVY LQMNNLKPEDTAVYYCHANIM ESAASTFGRYWGQGTQVTVSS
65.	3G7 CDR1	GRTLSTYT
66.	3G7 CDR2	AWPSPST
67.	3G7 CDR3	AADYKSLTQSWLNAALDY

68.	3G7 VHH	QVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCEASGRTLSTYTMGWFRRAPGKEREVGL AWPSPSTYVVDSVKGRFTISRDNANKNTIYLQMNSLKPEDTAIYYCAADYK SLTQSWLNAALDYWGQGTQVTVSS
69.	3H7 CDR1	GSILSAGV
70.	3H7 CDR2	IALDGSTG
71.	3H7 CDR3	NANIRTDMRSAPFDH
72.	3H7 VHH	QVKLEESGGGLVQAGGSLRLSACAASGSILSAGVMRWYRQAPGKQRELVA SIALDGSTGYIYDSVKGRFTISRDNANKNIVYLDMSLEPADTAVYLCNANI RTDMRSAPFDHWGHGTQVTVSS
73.	4C6 CDR1	GRTFSSYP
74.	4C6 CDR2	ISSDGRFT
75.	4C6 CDR3	AVDPTGWGTIEADFRS
76.	4C6 VHH	QVQLVESGGGLVQAGGSLRLACAASGRTFSSYPMGWFRQGPGRKERSVA AISSDGRFTYYAASVKGRFTISKDNAKSA AFLQMNSLKPEDTAVYRCAVD PTGWGTIEADFRSWGQGTQVTVSS
77.	1C12 CDR1	SRIFSRYG
78.	1C12 CDR2	ISWNGAST
79.	1C12 CDR3	AADPWGAVKLGTAEY EY
80.	1C12 VHH	QVQLVESGGGLVQTGDSLRLSACAASSRIFSRYGMGWFRQAPGKEREVAA ISWNGASTTYTDSVKGRFTISRDSAENTTYLQINSLRPEDTAVYYCAADPW GAVKLGTAEY EYWGQGTQVTVSS
81.	1G1 CDR1	GPSFSSYP
82.	1G1 CDR2	ISSDGRFT
83.	1G1 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
84.	1G1 VHH	QVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCVASGPSFSSYPMGWFRQGPGRKERSVAA ISSDGRFTYYAASVKGRFTISKDNAKSA AFLQMNSLKPEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGT LTVSS
85.	1G1-F-G-ERES VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASGPSFSSYPMGWFRQGPGRKERSVAA ISSDGRFTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGT LTVSS
86.	1G1-F-A-ERES VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKERSVAA ISSDGRFTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGT LTVSS
87.	1G1-F-A-EREW VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKEREWVA AISSDGRFTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAR DSGSGYYSRAQWYDYWGQGT LTVSS
88.	1G1-F-A-GLEW VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKGLEWVA AISSDGRFTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAR DSGSGYYSRAQWYDYWGQGT LTVSS
89.	1G1-F-A-GREL VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKGRELVA AISSDGRFTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGT LTVSS
90.	1G1-F-A-GRES VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKGRESVAA ISSDGRFTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGT LTVSS
91.	1C12-EREF VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASSRIFSRYGMGWFRQAPGKEREVAA ISWNGASTTYTDSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAADP WGAVKLGTAEY EYWGQGTQVTVSS
92.	1C12-EREW VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASSRIFSRYGMGWFRQAPGKEREWVA AISWNGASTTYTDSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAD PWGAVKLGTAEY EYWGQGTQVTVSS
93.	1C12_GLEW VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSACAASSRIFSRYGMGWFRQAPGKGLEWVA AISWNGASTTYTDSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAD PWGAVKLGTAEY EYWGQGTQVTVSS
94.	2A3 CDR1	GGSFSSYP
95.	2A3 CDR2	ISSDMRFT
96.	2A3 CDR3	AARDSGVGYYSRAQWYDY

97.	2A3 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGGSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDMRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGVGYY SRAQWYDYWGQGTLVTVSS
98.	1A8 CDR1	GPSFSSYP
99.	1A8 CDR2	ISSRGRFT
100.	1A8 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
101.	1A8 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSRGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
102.	1D11 CDR1	GPSFSSSP
103.	1D11 CDR2	ISSMGRFT
104.	1D11 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
105.	1D11 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSSPMGWFRQAPGKERESVAAI SSMGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARDS GSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
106.	5E8 CDR1	GPSFSSYP
107.	5E8 CDR2	QSSDGRFT
108.	5E8 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
109.	5E8 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA QSSDGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
110.	2A5 CDR1	GPSFSSYP
111.	2A5 CDR2	ISSVGRFT
112.	2A5 CDR3	AARDSGSGYYSRWQWYDY
113.	2A5 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSVGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRWQWYDYWGQGTLVTVSS
114.	5G10 CDR1	GPRFSSYP
115.	5G10 CDR2	ISSDGRFT
116.	5G10 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDG
117.	5G10 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPRFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYGWGQGTLVTVSS
118.	2A6 CDR1	GPSFSLYP
119.	2A6 CDR2	ISSDRRFT
120.	2A6 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
121.	2A6 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSLYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDRRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
122.	1G1-1C12 CDR1	GPSFSSYP
123.	1G1-1C12 CDR2	ISSDLRFT
124.	1G1-1C12 CDR3	AARDSGSGYYSRKQWYDY
125.	1C12 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDLRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARDS GSGYYSRKQWYDYWGQGTLVTVSS
126.	5B5 CDR1	GPSFSSYP
127.	5B5 CDR2	ISSDTRFT
128.	5B5 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDR
129.	5B5 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDTRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARDS GSGYYSRAQWYDRWGQGTLVTVSS
130.	6F12 CDR1	GPSFTSYP
131.	6F12 CDR2	ISSDGRFK
132.	6F12 CDR3	AAEDSGSGYYSRAQWYDY
133.	6F12 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFTSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDGRFKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAED SGSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS

134.	1C7 CDR1	GPSFSSYP
135.	1C7 CDR2	ISSRGRFT
136.	1C7 CDR3	AARGSGSGYYSRAQWYDY
137.	1C7 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSRGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARG SGSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
138.	6E9 CDR1	GPSRSSYP
139.	6E9 CDR2	ISSDGKFT
140.	6E9 CDR3	AARDSGSGYYSRANWYDY
141.	6E9 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSRSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDGKFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRANWYDYWGQGTLVTVSS
142.	1A10 CDR1	GNSFSSYP
143.	1A10 CDR2	ISSDGRFS
144.	1A10 CDR3	ACRDSGSGYYSRAQWYDY
145.	1A10 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGNSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDGRFSYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCACRDS GSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
146.	6B11 CDR1	GPSFPSYP
147.	6B11 CDR2	ISSRGRFT
148.	6B11 CDR3	AARDSGSGYYSRLQWYDY
149.	6B11 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFPSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSRGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRLQWYDYWGQGTLVTVSS
150.	6D8 CDR1	GPSFSSKP
151.	6D8 CDR2	RSSDGRFT
152.	6D8 CDR3	AARDSGSGRYSRAQWYDY
153.	6D8 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSKPMGWFRQAPGKERESVAA RSSDGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGRYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
154.	6D12 CDR1	GPSFSTYP
155.	6D12 CDR2	ISSDGVFT
156.	6D12 CDR3	AARDSGSGYYSREQWYDY
157.	6D12 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSTYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDGVFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSREQWYDYWGQGTLVTVSS
158.	2C5 CDR1	GPSFSTYP
159.	2C5 CDR2	ISSQGRFT
160.	2C5 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
161.	2C5 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSTYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSQGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
162.	7F6 CDR1	GPMFSSYP
163.	7F6 CDR2	ISSDPRFT
164.	7F6 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYDY
165.	7F6 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPMFSSYPMGWFRQAPGKERESVA AISSDPRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAR DSGSGYYSRAQWYDYWGQGTLVTVSS
166.	2D5 CDR1	GPSFSSSP
167.	2D5 CDR2	ISWDGRFT
168.	2D5 CDR3	AARDSGSGYYSRAQWYVY
169.	2D5 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFSSSPMGWFRQAPGKERESVAAI SWDGRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRAQWYVYWGQGTLVTVSS
170.	7B11 CDR1	GPSFLIYP
171.	7B11 CDR2	ISSDGRFW
172.	7B11 CDR3	AARDSGSGYYSRVQWYDY

173.	7B11 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFLIYPMGWFRQAPGKERESVAAI SSDGRFWYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD SGSGYYSRVQWYDYWGQGTLTVSS
174.	7D12 CDR1	GPSFLSYP
175.	7D12 CDR2	ISSDGRFS
176.	7D12 CDR3	AARDWGSYGYSRAQWYDY
177.	7D12 VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGPSFLSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDGRFSYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARD WGSYGYSRAQWYDYWGQGTLTVSS
178.	2A3 ML CDR1	GGSFSSYP
179.	2A3 ML CDR2	ISSDLRFT
180.	2A3 ML CDR3	AARDSGVGYYSRAQWYDY
181.	2A3 ML VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGGSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDLRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARDS GVGYYSRAQWYDYWGQGTLTVSS
182.	2A3 MI CDR1	GGSFSSYP
183.	2A3 MI CDR2	ISSDIRFT
184.	2A3 MI CDR3	AARDSGVGYYSRAQWYDY
185.	2A3 MI VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGGSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDIRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARDS GVGYYSRAQWYDYWGQGTLTVSS
186.	2A3 ML DT CDR1	GGSFSSYP
187.	2A3 ML DT CDR2	ISSDLRFT
188.	2A3 ML DT CDR3	AARTSGVGYYSRAQWYDY
189.	2A3 ML DT VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGGSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDLRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARTS GVGYYSRAQWYDYWGQGTLTVSS
190.	2A3 ML DE CDR1	GGSFSSYP
191.	2A3 ML DE CDR2	ISSDLRFT
192.	2A3 ML DE CDR3	AARESGVGYYSRAQWYDY
193.	2A3 ML DE VHH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGGSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDLRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARES GVGYYSRAQWYDYWGQGTLTVSS
194.	2A3 LT Fc	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGGSFSSYPMGWFRQAPGKERESVAA ISSDLRFTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAARTS GVGYYSRAQWYDYWGQGTLTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVF LFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
195.	示例性接头	GSGGSGGSGGSG
196.	示例性接头	GGGGSGGGGSGGGGS
197.	示例性接头	GGGSG
198.	示例性接头	GGGSGGGGSG
199.	示例性接头	GGSGGGSG
200.	示例性接头	GGSGGGSGGGSG
201.	示例性接头	GSGGSG
202.	示例性接头	GSGGSGGSG
203.	示例性接头	GSGGSGGSG

204.	示例性接头	GGGSGGGSGGGSGGG
205.	示例性接头	PAPAP
206.	示例性接头	PAPAPPAPAPPAPAP
207.	示例性接头	IKRTVAA
208.	示例性接头	VSSASTK
209.	示例性接头	AEAAAKA
210.	示例性接头	AEAAAKEAAKA
211.	示例性接头	GRPGS GRPGS
212.	示例性接头	GRPGS GRPGS GRPGS GRPGS
213.	示例性接头	GRGGS GRGGS
214.	示例性接头	GRGGS GRGGS GRGGS GRGGS
215.	示例性接头	GKPGS GKPGS
216.	示例性接头	GKPGS GKPGS GKPGS GKPGS
217.	示例性接头	GEPGS GEPGS
218.	示例性接头	GEGGS GEGGS GEGGS GEGGS
219.	示例性接头	GDPGS GDPGS
220.	示例性接头	GDPGS GDPGS GDPGS GDPGS
221.	人 TIGIT 多肽	MRWCLLLIWA QGLRQAPLAS GMMTGTIETT GNISAEKGGG IILQCHLSST TAQVTQVNWEQQDQLLAICN ADLGWHISPS FKDRVAPGPG LGLTLQSLTV NDTGEYFCIY HTYPDGTYTGRIFLEVLESS VAEHGARFQI PLLGAMAATL VVICTAVIVV VALTRKKKAL RIHSVEGDLRRKSAGQEEWS PSAPSPPGSC VQAEAAPAGL CGEQRGEDCA ELHDYFNVLS YRSLGNCSTFTETG
222.	人 TIGIT 多肽的 ECD	MRWCLLLIWA QGLRQAPLAS GMMTGTIETT GNISAEKGGG IILQCHLSST TAQVTQVNWEQQDQLLAICN ADLGWHISPS FKDRVAPGPG LGLTLQSLTV NDTGEYFCIY HTYPDGTYTGRIFLEVLESS VAEHGARF

以下实例仅是对当前公开的主题的说明，不应以任何方式视为限制。

实例

5 实例 1. 免疫、抗人 TIGIT VHH 抗体的产生和苗头抗体的发现

重组人 TIGIT 细胞外结构域 (ECD) 蛋白的抗原购自 Arco Bio 公司。根据本领域已知的方案，使用美洲驼进行 TIGIT 的免疫。通过 ELISA 测定法测定血清抗体的效价。在 3 轮免疫后，观察到高滴度 (1:100,000)。然后收集全血，并分离 PBMC。然后从 PBMC 中分离 RNA。

在本领域已知的方案下，通过 PCR 扩增 VHH 抗体基因，通过 DNA 琼脂糖凝胶纯化，
10 构建到噬菌体载体 pADL-23c (抗体设计实验室 (Antibody Design Labs)) 中，并转化至 TG1 电感受态细胞 (来自 Lucigen)。转化的 TG1 细胞在 Y2T 培养基中培养。通过添加辅助噬菌体并共培养过夜，可生产出具有目标 VHH 的噬菌体。通过离心收集培养上清液中的噬菌体，并使用包被生物素化的 h-TIGIT 或 cyno-TIGIT ECD 的链霉亲和素偶联的 Dynabeads 进行人-TIGIT (h-TIGIT) 或食蟹猴-TIGIT (cyno-TIGIT) 抗原的结合剂淘选。经过三轮淘选后，洗
15 脱了 h-TIGIT 或 cyno-TIGIT 的结合物，将其用于感染 SS320 细胞。挑选 SS320 细胞的集落并在 Y2T 培养基中培养，并添加 IPTG 以分泌 VHH 抗体。使用 h-TIGIT ECD 包被的板通过 ELISA 分析筛选具有 VHH 抗体的上清液。选择阳性 h-TIGIT 结合剂进行测序。选择了具有不同序列

的 29 个克隆。还通过 ELISA 检查了 VHH 抗体对 cyno-TIGIT 的结合能力。序列表(SEQ ID NO: 1-84) 中显示了前 21 种结合剂及其 CDR 和 VH。

还使用阻断 ELISA 测定法确定了 VHH 抗体克隆对阻断脊髓灰质炎病毒受体 (PVR, 又名 CD155) 与 TIGIT 结合的影响。进一步选择了对 PVR 结合 h-TIGIT 有 90%以上抑制作用的 9 个克隆 (克隆名称: 2B7、1G1、1C12、3G6、2B10、3G7、3F10、13H11 和 15A5)。

实例 2 - TIGIT VHH 抗体的表征和选择

通过添加图 1C 中所示的人恒定重链 2 (CH2) 和恒定重链 3 (CH3) 结构域, 构建从实例 1 中鉴定出的抗体克隆, 以制备二价抗体。所构建的二价 VHH 抗体在 ExpiCHO 细胞中表达, 并收集上清液中的蛋白质并通过蛋白质 A 纯化。

通过流式细胞术测定证实了二价克隆与人 TIGIT 转染的 Jurkat 细胞的结合亲和力。建立稳定表达人 TIGIT 和 NFAT 报告基因的 Jurkat 细胞。具体地, 通过电穿孔用人 TIGIT 表达载体转染 Jurkat 细胞, 并在细胞培养期间用 1 ug/ml 嘌呤霉素来选择稳定表达人 TIGIT 的细胞。将具有代表性的抗体克隆在不同浓度下与 h-TIGIT 稳定表达 Jurkat 细胞 (0.2×10^6 /ml) 在 96 孔板中以 100 ul/孔的 FACS 缓冲液 (含 1.5% FBS 的 PBS) 中孵育 30 分钟。洗涤后, 加入 Alexafluor 488 偶联的抗人 IgG Fc 二抗 (Alexa Fluor® 488 AffiniPure 山羊抗人 IgG, Fc γ 片段特异性, 杰克逊实验室 (Jackson labs), 1:500 稀释), 并孵育 30 分钟。洗涤后, 使用 CytoFlex (贝克曼库尔特公司 (Beckman Coulter)) 通过门控活细胞群体来测量平均荧光强度。使用 GraphPad Prism 计算结合亲和力。代表性的结果示于图 1A 和 1B 中。与参考 Ab1 (US 2016/0176963 A1 中公开的参考抗人 TIGIT 抗体, 根据所公开序列合成) 相比, 所有测试的抗体均对表达人 TIGIT 的细胞表现出高结合亲和力。

此外, 使用电穿孔用 NFAT 报告基因转染稳定表达人 TIGIT 的 Jurkat 细胞。通过在培养基中的 300 ug/ml 潮霉素选择表达 NFAT 报告基因的细胞。此外, 用人 PVR 稳定转染 Raji 细胞, 并在培养基中用潮霉素以 125 ug/ml 选择转染的细胞。然后通过葡萄球菌肠毒素 (SEE, 0.01 ng/ml) 的存在下共孵育表达人 PVR 的 Raji 细胞和表达人 TIGIT 和 NFAT 报告基因的 Jurkat 细胞持续 5 小时, 测定抗体对 PVR 介导的抑制 TCR 诱导的 NFAT 报告基因活性的影响。加入具有底物 (普洛麦格公司 (Promega)) 的 Bright-Glo 萤光素酶测定缓冲液, 并使用读板器通过化学发光活性来测定萤光素酶活性。使用 GraphPad Prims 的非线性回归方法计算抗体阻断 TIGIT 活性的能力。代表性结果如图 2 所示。与参考 Ab1 相比, 除 3F10 外的所有测试克隆均显示出相似的 TIGIT 阻断作用。

实例 3-抗 TIGIT 抗体的人源化

选择两个代表性克隆 1G1 和 1C12 对其框架进行人源化。简而言之, 使用两个克隆的序列进行 Igbblast 来搜索人种系基因的数据库。选择理想的种系序列, 并对框架序列进行突变以将框架序列从美洲驼的改变为人的。对于 1C12 克隆, 使用人种系 IGHV-3-30*10, 并制成了三种形式的人源化 1C12 (1C12-EREF、1C12-EREW 和 1C12-GLEW)。对于 1G1, 使用了人种系 IGHV-3-30*01, 并制作了六种形式的人源化 1G1 (1G1-F-G-ERES、1G1-F-A-ERES、

1G1-F-A-EREW、1G1-F-A-GLEW、1G1-F-A-GREL 和 1G1-F-A-GRES)。将构建体克隆到表达载体中，通过 ExpiCHO 的瞬时转染产生抗体蛋白，并通过蛋白 A 进行纯化。

人源化二价抗体与人 TIGIT 的结合亲和力通过与在 Jurkat 细胞上稳定表达的 h-TIGIT 的全细胞结合来确定。简而言之，将抗体与 h-TIGIT 转染的 Jurkat 细胞（100 μ l 的 0.2×10^6 /孔）在 FACS 缓冲液中孵育 30 分钟。将细胞洗涤一次，然后与抗人 IgG Fc AlexaFluor488（1:500）一起孵育。通过 CytoFlex 确定平均荧光强度，并使用 GraphPad Prism 8.0 进行非线性回归，计算抗体与 h-TIGIT 的结合亲和力，如图 3A 所示。与嵌合亲本克隆相比，对于所有三个形式的 1C12 克隆都观察到了相似的结合亲和力。对于 1G1 克隆，与嵌合克隆相比，两个人源化形式 F-G-ERES 和 F-A-ERES 对 h-TIGIT 表现出相似的亲和力，而两个形式（F-A-EREW 和 F-A-GLEW）对 h-TIGIT 失去结合亲和力，如图 3B 所示。

使用先前描述的方法确定人源化抗体在阻断 PVR 介导的对 TCR 介导的 NFAT 报告基因活性的抑制作用中的活性。简而言之，在 PVR 转染的 Raji 细胞和低浓度的葡萄球菌肠毒素（SEE，0.01 ng/ml）存在下，将人 TIGIT 和 NFAT 报告基因转染的 Jurkat 细胞与不同浓度的抗体孵育 5 小时。添加具有底物（普洛麦格公司（Promega））的 Bright-Glo 萤光素酶测定缓冲液，并测量萤光素酶活性。代表性结果显示在图 4A 和 4B。与嵌合亲本克隆和参考抗 h-TIGIT 抗体参考 Ab1 相比，1C12 克隆的所有人源化形式在阻断 TIGIT 方面具有相似的效力。除了两个形式 1G1-（F-A-EREW）和 1G1-（F-A-GLEW）失去了阻断作用以外，1G1 的所有人源化形式在阻断 TIGIT 方面均具有与嵌合亲本克隆相似的效力。

实例 4 - 亲和力成熟、选择和修改

对 1G1-F-A-ERES 克隆进行亲和力成熟。设计用于使每个 CDR 区的氨基酸单突变的引物。使用组装 PCR 制备突变文库，并将其克隆到噬菌体载体中。通过转化 TG1 细胞和克隆的 DNA 测序来测量文库质量。使用辅助噬菌体进行噬菌体生产，并使用涂有生物素化的 h-TIGIT ECD 或 cyno-TIGIT ECD 的链霉亲和素偶联的 Dynabeads 进行噬菌体淘选。经过两轮淘选后，洗脱淘选产物用于感染 SS320 细胞，挑取菌落并在具有 IPTG 的 Y2T 培养基中培养。通过 ELISA 测定法检查上清液中的 VHH 抗体。选择针对 h-和 cyno-TIGIT 的阳性克隆与 h-和 cyno-TIGIT 稳定表达的细胞进行全细胞结合。还对选定的克隆进行了 PVR 阻断 ELISA 和人 TIGIT 阻断 NFAT 报告基因检测。使用 GraphPad Prism 计算 EC50 或 IC50 值。序列列表（SEQ ID NO: 94-177）中显示了前 25 种结合剂及其 CDR 和 VHH。

使用 GraphPad Prism 将 EC50/IC50 在全细胞结合和阻断 ELISA 分析中的相关性作图，代表性数据如图 5A-5C 所示。鉴定出 2A3 具有最高的亲和力和效力。

通过在 25 至 70°C 的温度下热处理 60 分钟测试 12 个代表性克隆的热稳定性，然后使用 ELISA 和全细胞结合流式细胞术检测处理后的样品与人 TIGIT 的结合，其结果如图 6A 和 6B 所示。与其他克隆相比，克隆 2A3 具有更高的热稳定性。

使用人 IgG1 CH2 和 CH3 结构域构建了二价 2A3 抗体（2A3-Fc）。抗体在 ExpiCHO 细胞中表达，并通过蛋白 A 柱进行纯化。与抗 TIGIT 参考抗体参考 Ab1 和参考 Ab2（与 Tiragolumab

具有相同氨基酸序列的参考抗人 TIGIT 抗体, 根据在 U.S. 2017/0088613 A1 中公开的 Tiragolumab 序列合成) 相比, 使用 Octet 结合试验研究了与人 TIGIT 结合的 2A3-Fc 表位。如图 7A-7C 所示, 与参考 Ab1 和参考 Ab2 相比, 2A3 克隆结合至不同的表位。

2A3-Fc 对人、食蟹猴和小鼠 TIGIT 的物种间结合活性通过 ELISA 测定法测定, 其结果示于图 8A-8C 中。2A3-Fc 与人、食蟹猴结合, 但不与小鼠 TIGIT 结合。

对 2A3 的 CDR 区域的分析确定了两个热点, 即 CDR2 中的蛋氨酸和 CDR3 中的天冬氨酸, 然后是丝氨酸。将蛋氨酸突变为亮氨酸和异亮氨酸, 将天冬氨酸突变为苏氨酸和谷氨酸。修饰的抗体 (2A3 ML, 2A3 MI, 2A3 ML_DT (又名 2A3LT) 和 2A3 ML_DE) 的 CDR 和 VHH 在序列表中显示 (SEQ ID NO: 178-193)。在全细胞结合和 NFAT 萤光素酶报告基因检测中测试了修饰的形式, 与亲本 2A3 克隆相比, 所有这些修饰的抗体都表现出相似的特性。图 9 显示了 2A3-LT-Fc (2A3 ML DT) 的代表性数据, 其中 M 变为 L, 并且 D 变为 T (2A3 ML DT), 其中与亲本 2A3-Fc 相比, 在全细胞结合测定中观察到相似的人 TIGIT 结合亲和力, 在 NFAT 报告基因测定中观察到了相似的效力。

将 2A3-Fc 的亲和力和效力与参考抗 TIGIT 抗体参考 Ab2 进行了比较。2A3-Fc 表现出比参考 Ab2 显著得高的亲和力。在全细胞结合测定中, 2A3-Fc 的 EC50 值为 0.32 ± 0.06 nM, 而参考 Ab2 (n = 3) 为 0.61 ± 10.13 nM (图 10A)。与参考 Ab2 相比, 2A3-Fc 在 NFAT 萤光素酶报告基因检测中也显示出类似的阻断 TIGIT 的功效。2A3-Fc 的 EC50 值为 0.48 ± 10.18 nM, 而参考 Ab2 (n = 3) 为 0.72 ± 0.42 nM (图 10B)。

实例 5 -体外有效性研究

抗 TIGIT 抗体的抗肿瘤能力在体外实验中继续被探究。在肿瘤微环境中, 当表达 TIGIT 的 T 细胞与表达 PVR 的树突细胞(DC)接触时, DC 上表达的 PVR 会结合 T 细胞上的 TIGIT, 进而抑制 T 细胞抗肿瘤活性, 如抗肿瘤细胞因子的分泌。有效的抗 TIGIT 抗体的治疗可以阻断 TIGIT 与 PVR 的结合, 从而增强 T 细胞对肿瘤的杀伤能力。

树突细胞-T 细胞混合淋巴反应 (MLR assay) 被用来模拟这一发生在肿瘤微环境中的现象。从健康捐献者 PBMC 中分离出的表达 CD14 的单核白细胞(monocyte)被培养在含 50 ng/ml GM-CSF 和 50 ng/ml IL-4 的 RPMI1640 培养基中达 7 天(第 4 天更换培养基)以分化成 DC。之后 DC 再转移至含有 100 ng/ml LPS 的 RPMI 培养基中培养 1 天, 从而获得成熟的 DC。由此方法得到的树突细胞稳定表达 CD11c (成熟 DC 的生物标志物), MHC class II (二类主要组织相容性复合体), CD80 (CD28 的配体), 和 PVR (TIGIT 的配体)。利用 ThermoFisher T 细胞分离试剂盒按照说明方法从另一个健康捐献者 PBMC 中分离出 CD3+ T 细胞。此后将 10,000 个成熟 DC 和 200,000 个 CD3+ T 细胞混合培养在含有 10%FBS-HI 的 RPMI1640 培养基中, 每孔加入不同浓度的抗 TIGIT 抗体和对照抗体。在 37° C, 5.0% CO2 的环境中混合培养 48 小时后, 利用 PerkinElmer 的 IL-2 AlphaLisa 检测试剂盒 (AlphaLisa human IL-2 kit: Cat#AL221C)检测上清中 IL-2 的水平。抗 PD1 抗体作为正向对照, 抗 HER2 抗体作为负向对照。

如图 11 所示，2A3-LT-Fc 抗体以剂量依赖的方式提升了 T 细胞分泌 IL-2 的水平，其与正对照抗 PD1 抗体相当。相反，Tiragolumab 类似物没有提升 T 细胞分泌 IL-2 的水平。因为 IL-2 是重要的抗肿瘤细胞因子，此结果说明抗 TIGIT 抗体 2A3-LT-Fc 可以显著提升肿瘤微环境中 T 细胞的抗肿瘤能力，且其展现了比 Tiragolumab 类似物更好的抗肿瘤能力。

5 实例 6- Fc 工程化

抗 TIGIT 抗体增强免疫功能和抗肿瘤活性的作用机制不仅涉及对 TIGIT 的阻断作用，而且还涉及抗原呈递细胞 (APC) 与有效 T 细胞 (CD8 + T 细胞) 之间的结合作用，通过 APC 上的 FcγRIIIA 结合抗体 Fc 区，以及有效 T 细胞上 VHH 结构域与 TIGIT 的结合。为了利用这种机制，制得了两种不同的 Fc 增强形式，一种具有 DLE 突变 (S239D、A330L 和 I332E)，
10 一种具有 VPVLL 突变 (L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L)。Fc 突变体与人 FcγRIIIA 和 FcγRIIB 的结合通过使用 FcγRIIIA 和 FcγRIIB 的 ECD 的重组蛋白的 Octet 结合测定来检查，其结果如图 12 所示。DLE 和 VPVLL 突变体均具有增强的对人 FcγRIIIA 的结合亲和力。DLE 突变体还具有增强的与人 FcγRIIB 的结合亲和力，而 VPVLL 突变体具有降低的对人 FcγRIIB 的结合亲和力。

15 还检查了 Fc 突变体的 TIGIT 阻断活性，其中 DLE 突变体显示出降低的 TIGIT 阻断功能，如图 13A 所示。

此外，当抗体可变区与其特异性抗原结合时，其 Fc 区可以交联 FcγRIIIA 并触发下游信号传导。使用这种作用方式，使用人 FcγRIIIA 和 NFAT 报告基因转染的 Jurkat 细胞和过表达 TIGIT 的 293T 细胞检查了 Fc 突变体对 FcγRIIIA 介导的活性的影响。在该测定系统中，如图
20 13B 所示，与野生型 Fc 形式相比，DLE 突变体显著增加了人 FcγRIIIA 介导的 NFAT 报告基因活性。

表 3 对应图 13A 的检测数据

EC50 (nM)	2A3 LT-Fc	DLE
Exp 1	0.58	0.67
Exp 2	0.687	0.92
Exp 3	0.45	1.32
平均数	0.57	0.97
SD	0.12	0.3279

表 4 对应图 13B 的检测数据

EC50 (nM)	2A3 LT-Fc	DLE
Exp 1	0.226	0.027
Exp 2	0.175	0.0295
Exp 3	0.144	0.018

Exp 4	0.18	0.02
平均数	0.18	0.024
SD	0.03	0.005

实例 7 – 体内有效性研究

利用人 TIGIT 敲入的 C57BL/6 小鼠和 MC38 鼠结肠癌模型, 2A3-LT-Fc wt, 2A3-LT-Fc-DLE 的有效性得到了评估并与参考 Ab2 比较。在治疗前一周给小鼠接种了 MC38 肿瘤细胞。当平均肿瘤大小达到约 51 mm³ 时治疗开始, 在腹膜内一周两次给药, 持续 2.5 周。2A3-LT-Fc 抗体每次 6mg/kg 或参考 Ab2 每次 11mg/kg (与 2A3-LT-Fc 抗体在 mole/kg 上等同)。治疗后 16 天, 多只对照组的小鼠中肿瘤大小达到上限 (2000 mm³)。因此治疗后 16 天成为分析的数据终点。在对照组中, 平均肿瘤体积在治疗后 16 天为 1548.76±191 mm³ (平均值±标准误差)。与对照组相比, 使用 2A3-LT-Fc wt, 2A3-LT-Fc-DLE 的治疗显著减小了肿瘤生长, 造成依次为 38% 和 50% 的 TGI (肿瘤抑制) 及依次为 985.05±123 mm³ 和 802.20±126 mm³ 的肿瘤体积(与空白对照相比通过曼-惠特尼 (Mann-Whitney) 检验 P 值依次为 0.037 和 0.007)。使用参考抗体的治疗也减小了肿瘤生长, 但由此抗体造成的减小与对照组相比在统计上并不显著, 其 TGI 为 26%, 肿瘤体积为 1156.16±195 mm³(图 14A, 表 5)。单个肿瘤体积的结果显示在图 14B 中。这些结果表明 2A3-LT-Fc 和 2A3-LT-Fc-DLE 都比参考 Ab2 更有效。在研究中各实验组的体重变化并不显著 (图 14C), 表明治疗得到了良好的耐受。

表 5. MC38 同基因人 TIGIT 小鼠模型第 16 天的平均肿瘤体积

组	处理	N	肿瘤体积 (mm ³) ^a	P ^b	% TGI (16 天)
1	媒介物	8	1548.76±191		
2	2A3-LT-Fc-wt 6 mg/kg	8	985.05±123	0.037	38
3	2A3-LT-Fc-DLE 6 mg/kg	8	802.20±126	0.007	50
4	参考 Ab 2, 11 mg/kg	8	1156.16±195	0.234	26

^a 平均值±标准误差

^b 在治疗后 16 天通过曼-惠特尼 (Mann-Whitney) 检验与空白对照相比

除了所描绘和要求保护的各种实施例之外, 所公开的主题还针对具有本文所公开和要求保护的特征的其他组合的其他实施例。这样, 本文所呈现的特定特征可以在所公开的主题的范围内以其他方式彼此组合, 使得所公开的主题包括本文所公开的特征的任何合适的组合。出于展示和说明的目的已经提出了所公开主题的具体实施例的以上说明。以上说明并不旨在是穷尽的或将所公开主题限制于所公开的那些实施例。

对于本领域技术人员将显而易见的是, 在不脱离所公开主题的精神或范围的情况下, 可以对所公开主题的组成和方法进行多种修改和变化。因此, 预期的是所公开主题包括在所附权利要求书及其等同物范围之内的修改和变化。

本文引用了多种出版物、专利和专利申请, 其内容通过引用以其整体并入本文。

权利要求书

1.一种与 TIGIT 结合的抗体, 该抗体包含单结构域抗体, 该单结构域抗体以 1×10^{-7} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。

2.如权利要求 1 所述的抗体, 其中该单结构域抗体以 1×10^{-8} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。

5 3.如权利要求 1 或 2 所述的抗体, 其中该单结构域抗体以 5×10^{-9} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。

4.如权利要求 1 至 3 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体以 2×10^{-9} M 或更小的 KD 结合 TIGIT。

5.如权利要求 1 至 4 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含 VHH。

10 6.如权利要求 1 至 5 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体或 VHH 包含重链可变区 (VH)。

7.如权利要求 1 至 6 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体与包含重链可变区的参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合, 该重链可变区包含:

15 a)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 94 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 95 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 96 所示序列的氨基酸,

b)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 98 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 99 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 100 所示序列的氨基酸,

20 c)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 102 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 103 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 104 所示序列的氨基酸,

d)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 106 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 107 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 108 所示序列的氨基酸,

25 e)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 110 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 111 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 112 所示序列的氨基酸,

30 f)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 114 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 115 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 116 所示序列的氨基酸,

g)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 118 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 119 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 120 所示序列的氨基酸,

35 h)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 122 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 123 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有

SEQ ID NO: 124 所示序列的氨基酸，

i)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 126 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 127 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 128 所示序列的氨基酸，

5 j)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 130 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 131 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 132 所示序列的氨基酸，

k)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 134 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 135 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 10 136 所示序列的氨基酸，

l)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 138 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 139 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 140 所示序列的氨基酸，

m)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 142 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,15 其包含具有 SEQ ID NO: 143 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 144 所示序列的氨基酸，

n)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 146 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 147 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 148 所示序列的氨基酸，

20 o)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 150 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 151 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 152 所示序列的氨基酸，

p)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 154 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 155 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 25 156 所示序列的氨基酸，

q)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 158 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 159 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 160 所示序列的氨基酸，

r)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 162 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,30 其包含具有 SEQ ID NO: 163 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 164 所示序列的氨基酸，

s)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 166 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 167 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 168 所示序列的氨基酸，

35 t)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 170 所示序列的氨基酸;重链可变区

CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 171 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 172 所示序列的氨基酸,

5 u)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 174 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 175 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 176 所示序列的氨基酸,

v)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 178 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 179 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 180 所示序列的氨基酸,

10 w)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 182 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 183 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 184 所示序列的氨基酸,

x)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 186 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 187 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 188 所示序列的氨基酸, 或

15 y)重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 190 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 191 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 192 所示序列的氨基酸。

8.如权利要求 1 至 7 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含:

20 a)重链可变区 CDR1, 该重链可变区 CDR1 包含 SEQ ID NO: 94、98、102、106、110、114、118、122、126、130、134、138、142、146、150、154、158、162、166、170、174、178、182、186 和 190 中任何一个的氨基酸序列, 或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体;

25 b)重链可变区 CDR2, 该重链可变区 CDR2 包含 SEQ ID NO: 95、99、103、107、111、115、119、123、127、131、135、139、143、147、151、155、159、163、167、171、175、179、183、187 和 191 中任何一个的氨基酸序列, 或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体; 以及

c)重链可变区 CDR3, 该重链可变区 CDR3 包含 SEQ ID NO: 96、100、104、108、112、116、120、124、128、132、136、140、144、148、152、156、160、164、168、172、176、180、184、188 和 192 中任何一个的氨基酸序列, 或其具有多达约 3 个氨基酸取代的变体。

30 9.如权利要求 1 至 8 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域, 其中该 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域分别含有包含在参考重链可变区中的 CDR1 结构域、CDR2 结构域和 CDR3 结构域, 该参考重链可变区包含选自由 SEQ ID NO: 97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161、165、169、173、177、181、
35 185、189 和 193 组成的组的氨基酸序列。

10.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 94 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 95 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 96 所示序列的氨基酸。

11.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 98 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 99 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 100 所示序列的氨基酸。

12.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 102 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 103 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 104 所示序列的氨基酸。

13.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 106 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 107 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 108 所示序列的氨基酸。

14.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 110 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 111 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 112 所示序列的氨基酸。

15.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 114 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 115 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 116 所示序列的氨基酸。

16.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 118 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 119 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 120 所示序列的氨基酸。

17.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 122 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 123 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 124 所示序列的氨基酸。

18.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 126 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 127 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 128 所示序列的氨基酸。

19.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区

CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 130 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 131 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 132 所示序列的氨基酸。

20. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 134 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 135 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 136 所示序列的氨基酸。

21. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 138 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 139 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 140 所示序列的氨基酸。

22. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 142 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 143 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 144 所示序列的氨基酸。

23. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 146 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 147 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 148 所示序列的氨基酸。

24. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 150 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 151 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 152 所示序列的氨基酸。

25. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 154 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 155 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 156 所示序列的氨基酸。

26. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 158 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 159 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 160 所示序列的氨基酸。

27. 如权利要求 1 至 9 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含: 重链可变区 CDR1, 其包含具有 SEQ ID NO: 162 所示序列的氨基酸; 重链可变区 CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 163 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 164 所示序列的氨基酸。

28.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 166 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 167 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 168 所示序列的氨基酸。

5 29.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 170 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 171 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 172 所示序列的氨基酸。

10 30.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 174 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 175 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 176 所示序列的氨基酸。

15 31.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 178 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 179 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 180 所示序列的氨基酸。

20 32.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 182 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 183 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 184 所示序列的氨基酸。

25 33.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 186 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 187 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 188 所示序列的氨基酸。

34.如权利要求1至9中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含:重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 190 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 191 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 192 所示序列的氨基酸。

30 35.如权利要求1至34中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含重链可变区,该重链可变区包含与选自由 SEQ ID NO: 97、101、105、109、113、117、121、125、129、133、137、141、145、149、153、157、161、165、169、173、177、181、185、189 和 193 组成的组的氨基酸序列具有至少约 90%序列同一性的氨基酸序列。

36.如权利要求1至35中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含重链可变区,该重链可变区包含 SEQ ID NO: 97 所示的氨基酸序列。

35 37.如权利要求1至35中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含重链可变区,

该重链可变区包含 SEQ ID NO: 101 所示的氨基酸序列。

38.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 105 所示的氨基酸序列。

39.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 109 所示的氨基酸序列。

40.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 113 所示的氨基酸序列。

41.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 117 所示的氨基酸序列。

42.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 121 所示的氨基酸序列。

43.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 125 所示的氨基酸序列。

44.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 129 所示的氨基酸序列。

45.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 133 所示的氨基酸序列。

46.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 137 所示的氨基酸序列。

47.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 141 所示的氨基酸序列。

48.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 145 所示的氨基酸序列。

49.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 149 所示的氨基酸序列。

50.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 153 所示的氨基酸序列。

51.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 157 所示的氨基酸序列。

52.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 161 所示的氨基酸序列。

53.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 165 所示的氨基酸序列。

54.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 169 所示的氨基酸序列。

55.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 173 所示的氨基酸序列。

56.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 177 所示的氨基酸序列。

5 57.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 181 所示的氨基酸序列。

58.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 185 所示的氨基酸序列。

10 59.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 189 所示的氨基酸序列。

60.如权利要求 1 至 35 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体包含重链可变区，该重链可变区包含 SEQ ID NO: 193 所示的氨基酸序列。

61.如权利要求 1 至 60 中任一项所述的抗体，其中该单结构域抗体与包含重链可变区的参考抗 TIGIT 单结构域抗体交叉竞争与 TIGIT 结合，该重链可变区包含：

15 (a)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 1 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 2 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 3 所示序列的氨基酸，

(b)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 5 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 6 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 20 7 所示序列的氨基酸，

(c)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 9 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 10 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 11 所示序列的氨基酸，

25 (d)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 13 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 14 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 15 所示序列的氨基酸，

(e)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 17 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 18 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 19 所示序列的氨基酸，

30 (f)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 21 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 22 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 23 所示序列的氨基酸，

(g)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 25 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 26 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 35 27 所示序列的氨基酸，

(h)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 29 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 30 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 31 所示序列的氨基酸,

5 (i)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 33 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 34 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 35 所示序列的氨基酸,

(j)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 37 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 38 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 39 所示序列的氨基酸,

10 (k)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 41 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 42 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 43 所示序列的氨基酸,

(l)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 45 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 46 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 15 47 所示序列的氨基酸,

(m)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 49 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 50 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 51 所示序列的氨基酸,

20 (n)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 53 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 54 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 55 所示序列的氨基酸,

(o)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 57 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 58 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 59 所示序列的氨基酸,

25 (p)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 61 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 62 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 63 所示序列的氨基酸,

(q)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 65 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 66 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 30 67 所示序列的氨基酸,

(r)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 69 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 70 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 71 所示序列的氨基酸,

35 (s)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 73 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 74 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ

ID NO: 75 所示序列的氨基酸，

(t)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 77 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 78 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 79 所示序列的氨基酸, 或

5 (u)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 81 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 82 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 83 所示序列的氨基酸。

62.如权利要求 1 至 61 中任一项所述的抗体,其中该单结构域抗体包含重链可变区,该重链可变区包含:

10 (a)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 1 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 2 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 3 所示序列的氨基酸,

(b)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 5 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 6 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 7 所示序列的氨基酸,

15 (c)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 9 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 10 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 11 所示序列的氨基酸,

(d)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 13 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 14 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 15 所示序列的氨基酸,

(e)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 17 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 18 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 19 所示序列的氨基酸,

25 (f)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 21 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 22 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 23 所示序列的氨基酸,

(g)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 25 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 26 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 27 所示序列的氨基酸,

30 (h)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 29 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 30 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ ID NO: 31 所示序列的氨基酸,

(i)重链可变区 CDR1,其包含具有 SEQ ID NO: 33 所示序列的氨基酸;重链可变区 CDR2,其包含具有 SEQ ID NO: 34 所示序列的氨基酸;和重链可变区 CDR3,其包含具有 SEQ

ID NO: 35 所示序列的氨基酸，

(j)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 37 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 38 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 39 所示序列的氨基酸，

5 (k)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 41 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 42 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 43 所示序列的氨基酸，

(l)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 45 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 46 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 10 47 所示序列的氨基酸，

(m)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 49 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 50 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 51 所示序列的氨基酸，

(n)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 53 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，15 其包含具有 SEQ ID NO: 54 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 55 所示序列的氨基酸，

(o)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 57 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 58 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 59 所示序列的氨基酸，

20 (p)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 61 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 62 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 63 所示序列的氨基酸，

(q)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 65 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 66 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 25 67 所示序列的氨基酸，

(r)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 69 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 70 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 71 所示序列的氨基酸，

(s)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 73 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，30 其包含具有 SEQ ID NO: 74 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 75 所示序列的氨基酸，

(t)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 77 所示序列的氨基酸；重链可变区 CDR2，其包含具有 SEQ ID NO: 78 所示序列的氨基酸；和重链可变区 CDR3，其包含具有 SEQ ID NO: 79 所示序列的氨基酸，或

35 (u)重链可变区 CDR1，其包含具有 SEQ ID NO: 81 所示序列的氨基酸；重链可变区

CDR2, 其包含具有 SEQ ID NO: 82 所示序列的氨基酸; 和重链可变区 CDR3, 其包含具有 SEQ ID NO: 83 所示序列的氨基酸。

63. 如权利要求 1 至 62 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含重链可变区, 该重链可变区包含与选自由 SEQ ID NO: 4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、80 和 84 组成的组的氨基酸序列具有至少约 90% 序列同一性的氨基酸序列。

64. 如权利要求 1 至 63 中任一项所述的抗体, 其中该单结构域抗体包含人源化框架。

65. 如权利要求 1 至 64 中任一项所述的抗体, 其中该抗体包含 Fc 区。

66. 如权利要求 1 至 65 中任一项所述的抗体, 其中该 Fc 区包含人 Fc 区。

67. 如权利要求 1 至 66 中任一项所述的抗体, 其中该 Fc 区包含选自下组的 Fc 区, 该组由以下组成: IgG、IgA、IgD、IgE 和 IgM 的 Fc 区。

68. 如权利要求 1 至 67 中任一项所述的抗体, 其中该 Fc 区包含选自下组的 Fc 区, 该组由以下组成: IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 的 Fc 区。

69. 如权利要求 1 至 68 中任一项所述的抗体, 其中该 Fc 区包含 IgG1 Fc 区。

70. 如权利要求 69 所述的抗体, 其中该 IgG1 Fc 区包含一种或多种增强抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 的突变。

71. 如权利要求 70 所述的抗体, 其中该 IgG1 Fc 区包含 L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L 的突变。

72. 如权利要求 70 所述的抗体, 其中该 IgG1 Fc 区包含 S239D、A330L 和 I332E 的突变。

73. 如权利要求 1 至 72 中任一项所述的抗体, 其中该重链可变区通过接头连接至 Fc 区。

74. 如权利要求 73 所述的抗体, 其中该接头是肽接头。

75. 如权利要求 74 所述的抗体, 其中该肽接头包含约 4 至约 30 个氨基酸。

76. 如权利要求 74 或 75 所述的抗体, 其中该肽接头包含选自由 SEQ ID NO: 195-220 组成的组的氨基酸序列。

77. 如权利要求 1 至 76 中任一项所述的抗体, 其中该抗体包含多特异性抗体, 例如双特异性抗体, 全长免疫球蛋白, 单链 Fv(scFv) 片段, Fab 片段, Fab' 片段, F(ab')₂, Fv 片段, 二硫键稳定的 Fv 片段(dsFv), (dsFv)₂, VHH, Fv-Fc 融合物, scFv-Fc 融合物, scFv-Fv 融合物, 双抗体, 三抗体, 四抗体或任何它们的组合。

78. 如权利要求 1 至 77 中任一项所述的抗体, 其中该抗体包含多特异性抗体, 例如双特异性抗体, 其包含特异性结合第二抗原的第二抗体部分。

79. 如权利要求 78 所述的抗体, 其中该第二抗原是肿瘤相关抗原。

80. 如权利要求 79 所述的抗体, 其中该肿瘤相关抗原选自由以下组成的组: Her-2, EGFR, PDL1, c-Met, B 细胞成熟抗原 (BCMA), 碳酸酐酶 IX (CA1X), 癌胚抗原 (CEA), CD5, CD7, CD10, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD34, CD38, CD41, CD44, CD49f, CD56, CD74, CD123, CD133, CD138, CD276 (B7H3), 上皮糖蛋白 (EGP2), 滋养层细

胞表面抗原 2 (TROP-2), 上皮糖蛋白-40 (EGP-40), 上皮细胞粘附分子 (EpCAM), 受体酪氨酸蛋白激酶 erb-B2、3、4, 叶酸结合蛋白 (FBP), 胎儿乙酰胆碱受体 (AChR), 叶酸受体-a, 神经节苷脂 G2 (GD2), 神经节苷脂 G3 (GD3), 人端粒酶逆转录酶 (hTERT), 激酶插入结构域受体 (KDR), Lewis A (CA 1.9.9), Lewis Y (LeY), 磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3),
5 L1 细胞粘附分子 (L1CAM), 粘蛋白 16 (Muc-16), 粘蛋白 1 (Muc-1), NG2D 配体, 癌胚抗原 (h5T4), 前列腺干细胞抗原 (PSCA), 前列腺特异性膜抗原 (PSMA), 肿瘤相关糖蛋白 72 (TAG-72), 密封蛋白 18.2 (CLDN18.2), 血管内皮生长因子 R2 (VEGF-R2), 肾母细胞瘤蛋白 (WT-1), 1 型酪氨酸蛋白激酶跨膜受体 (ROR1) 及其任何组合。

81. 如权利要求 80 所述的抗体, 其中该第二抗原是免疫检查点调节剂。

10 82. 如权利要求 81 所述的抗体, 其中该免疫检查点调节剂选自以下组成的组: PD1、CTLA4、LAG-3、2B4、BTLA 及其任何组合。

83. 如权利要求 1 至 82 中任一项所述的抗体, 其中该抗体缀合至治疗剂或标记。

84. 如权利要求 83 所述的抗体, 其中该标记选自以下组成的组: 放射性同位素、荧光染料和酶。

15 85. 一种免疫缀合物, 该免疫缀合物包含与治疗剂连接的如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体。

86. 如权利要求 85 所述的免疫缀合物, 其中该治疗剂是细胞毒素。

87. 如权利要求 85 所述的免疫缀合物, 其中该治疗剂是放射性同位素。

20 88. 一种药物组合物, 该药物组合物包含 a) 如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体或如权利要求 85 至 87 中任一项所述的免疫缀合物, 和 b) 药学上可接受的载剂。

89. 一种核酸, 该核酸编码如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体。

90. 一种载体, 该载体包含如权利要求 89 所述的核酸。

91. 一种宿主细胞, 该宿主细胞包含如权利要求 89 所述的核酸或如权利要求 90 所述的载体。

25 92. 一种制备如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体的方法, 该方法包括在如权利要求 91 所述的宿主细胞中表达该抗体并从该宿主细胞中分离该抗体。

93. 一种减轻受试者的肿瘤负荷的方法, 该方法包括向该受试者施用有效量的如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体、如权利要求 85 至 87 中任一项所述的免疫缀合物或如权利要求 88 所述的药物组合物。

30 94. 如权利要求 93 所述的方法, 其中该方法减少肿瘤细胞的数量。

95. 如权利要求 93 或 94 所述的方法, 其中该方法减小肿瘤大小。

96. 如权利要求 93 至 95 中任一项所述的方法, 其中该方法根除该受试者的肿瘤。

35 97. 如权利要求 93 至 95 中任一项所述的方法, 其中该肿瘤选自以下组成的组: 间皮瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、胸膜肿瘤、成胶质细胞瘤、食道癌、胃癌、滑膜肉瘤、胸腺癌、子宫内膜癌、胃肿瘤、胆管癌、头颈癌、血液癌及其组合。

98.一种治疗和/或预防赘生物的方法，该方法包括向受试者施用有效量的如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体、如权利要求 85 至 87 中任一项所述的免疫缀合物或如权利要求 88 所述的药物组合物。

5 99.一种延长患有赘生物的受试者的存活期的方法，该方法包括向该受试者施用有效量的如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体、如权利要求 85 至 87 中任一项所述的免疫缀合物或如权利要求 88 所述的药物组合物。

100.如权利要求 98 或 99 所述的方法，其中该赘生物选自由以下组成的组：间皮瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、胸膜肿瘤、成胶质细胞瘤、食道癌、胃癌、滑膜肉瘤、胸腺癌、子宫内膜癌、胃肿瘤、胆管癌、头颈癌、血液癌及其组合。

10 101.如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体，其用作药物。

102.如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体，其用于治疗癌症。

103.如权利要求 88 所述的药物组合物，其用作药物。

104.如权利要求 88 所述的药物组合物，其用于治疗癌症。

15 105.如权利要求 102 所述的抗体或如权利要求 104 所述的药物组合物，其中该癌症选自由以下组成的组：间皮瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌、结肠癌、胸膜肿瘤、成胶质细胞瘤、食道癌、胃癌、滑膜肉瘤、胸腺癌、子宫内膜癌、胃肿瘤、胆管癌、头颈癌、血液癌及其组合。

20 106.一种试剂盒，该试剂盒包含如权利要求 1 至 84 中任一项所述的抗体、如权利要求 85 至 87 中任一项所述的免疫缀合物、如权利要求 88 所述的药物组合物、如权利要求 89 所述的核酸、如权利要求 90 所述的载体、或如权利要求 91 所述的宿主细胞。

107.如权利要求 106 所述的试剂盒，该试剂盒进一步包含用于治疗 and/或预防赘生物的表面说明书。

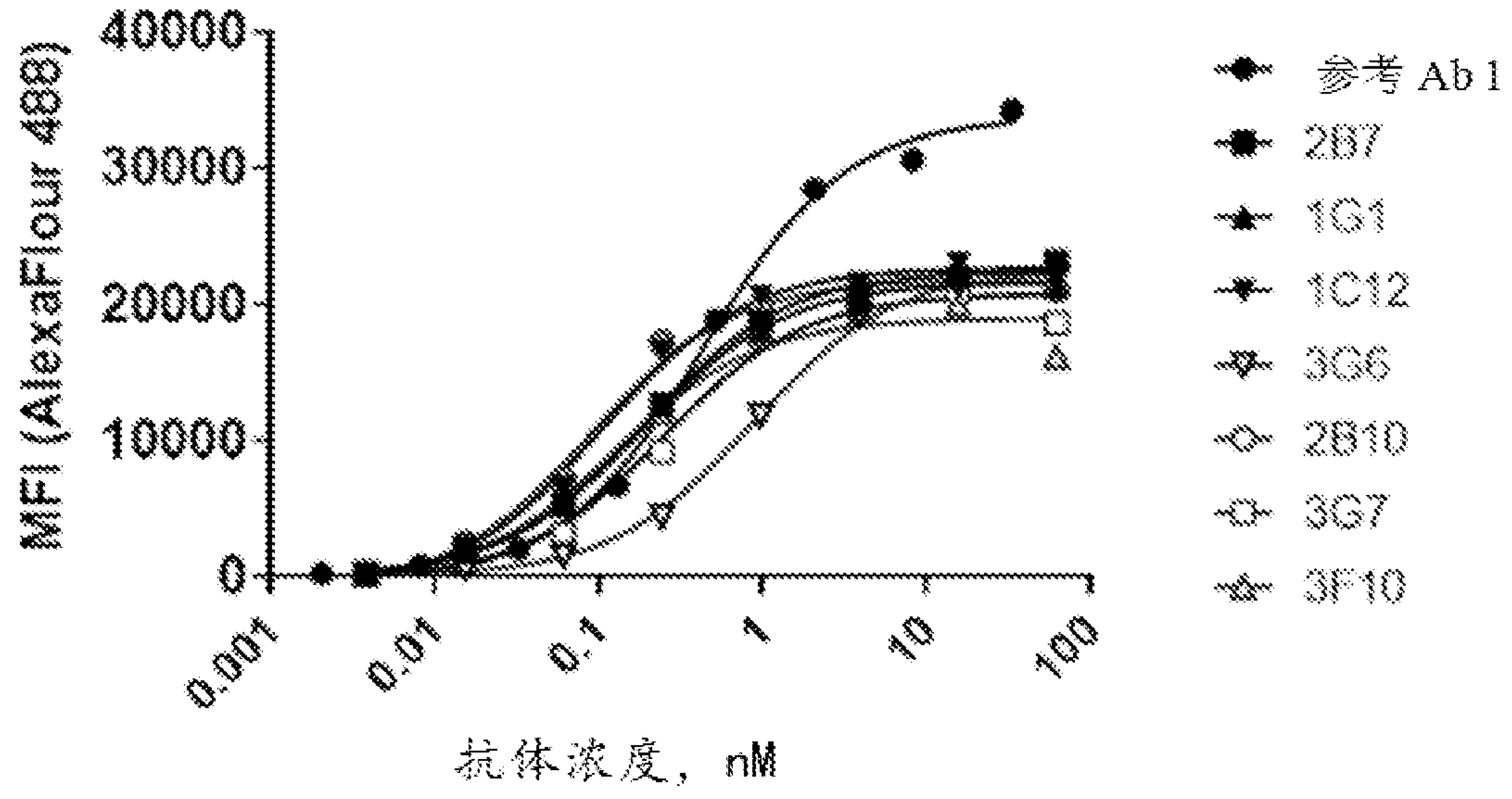


图 1A

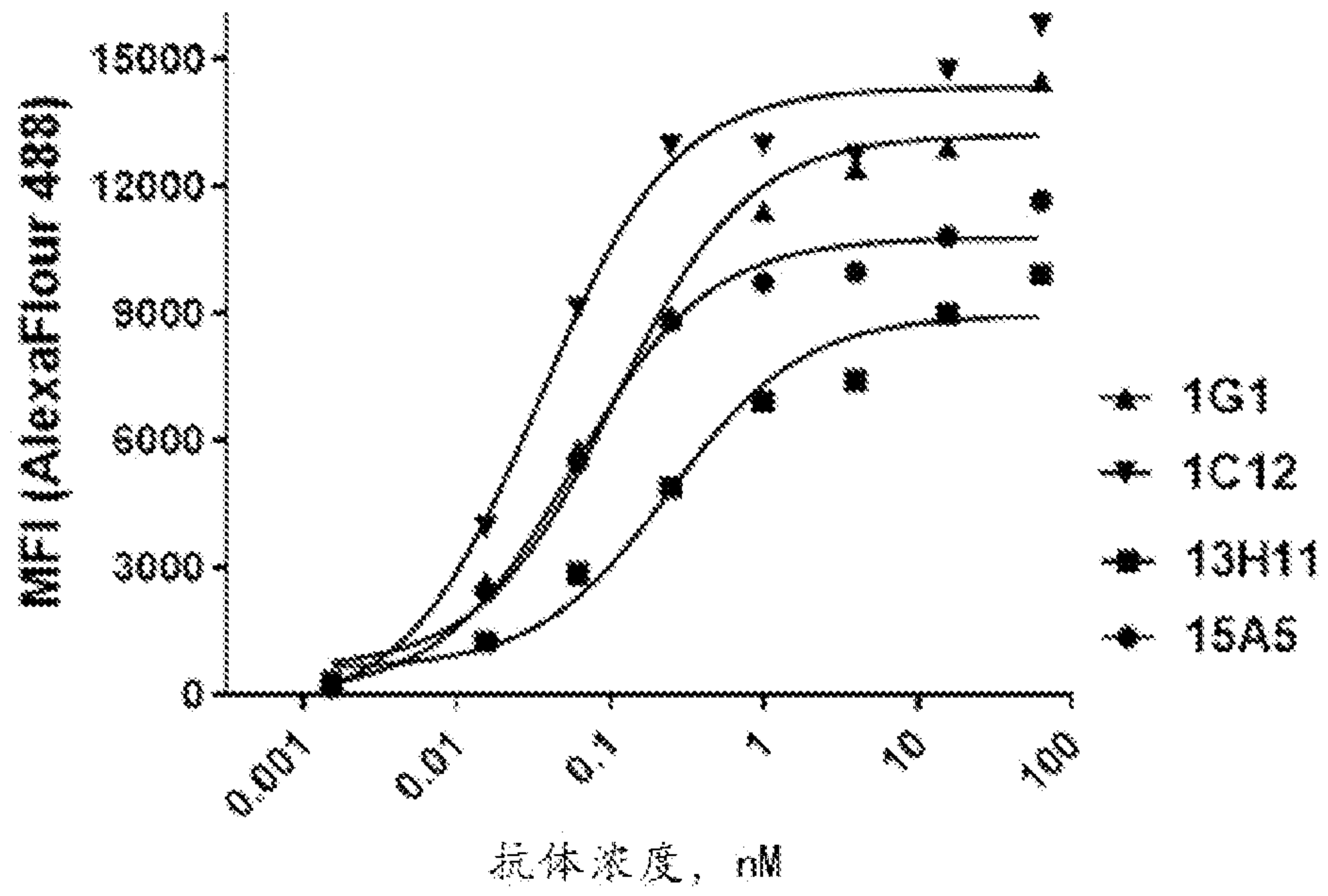


图 1B

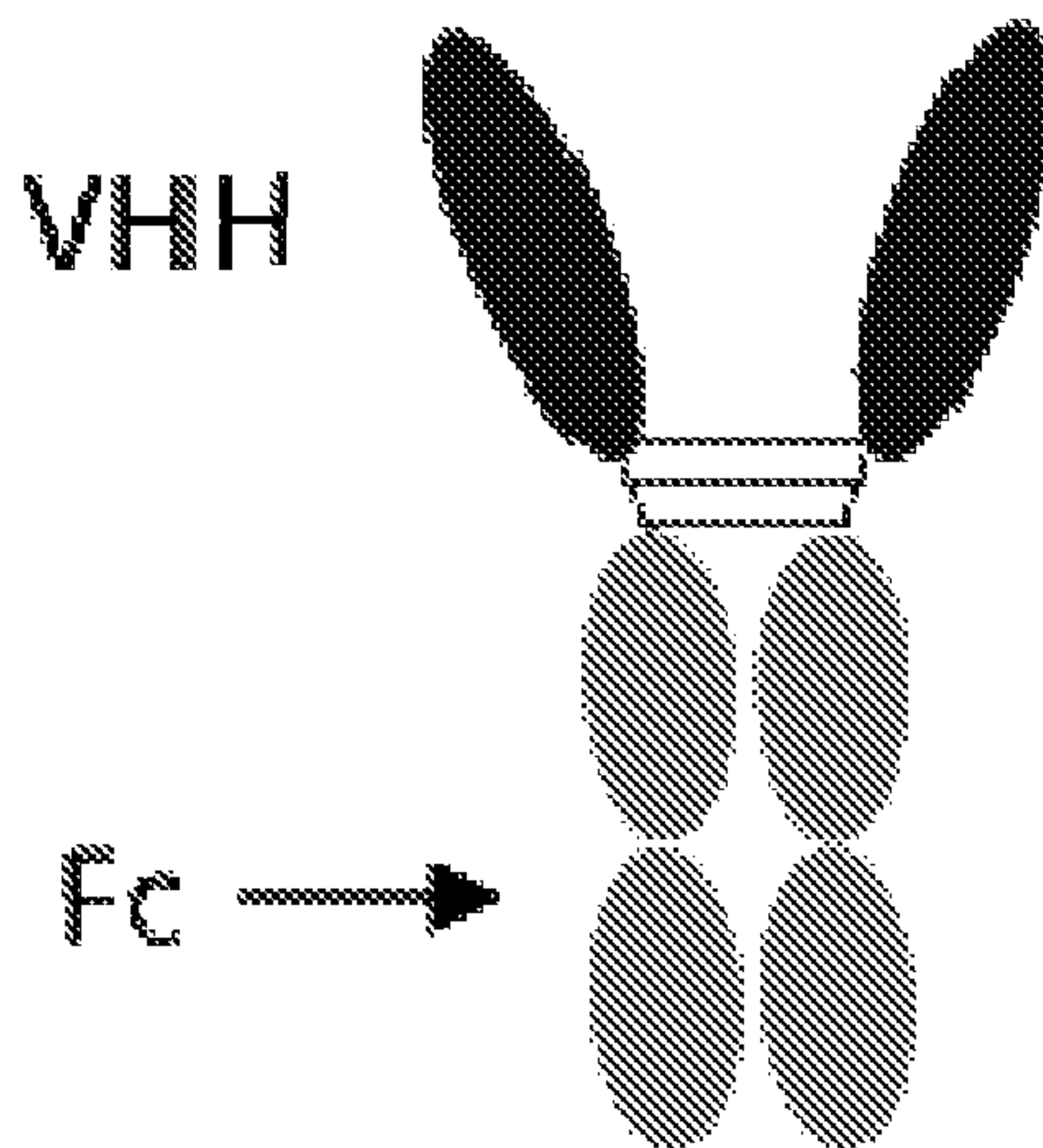


图 1C

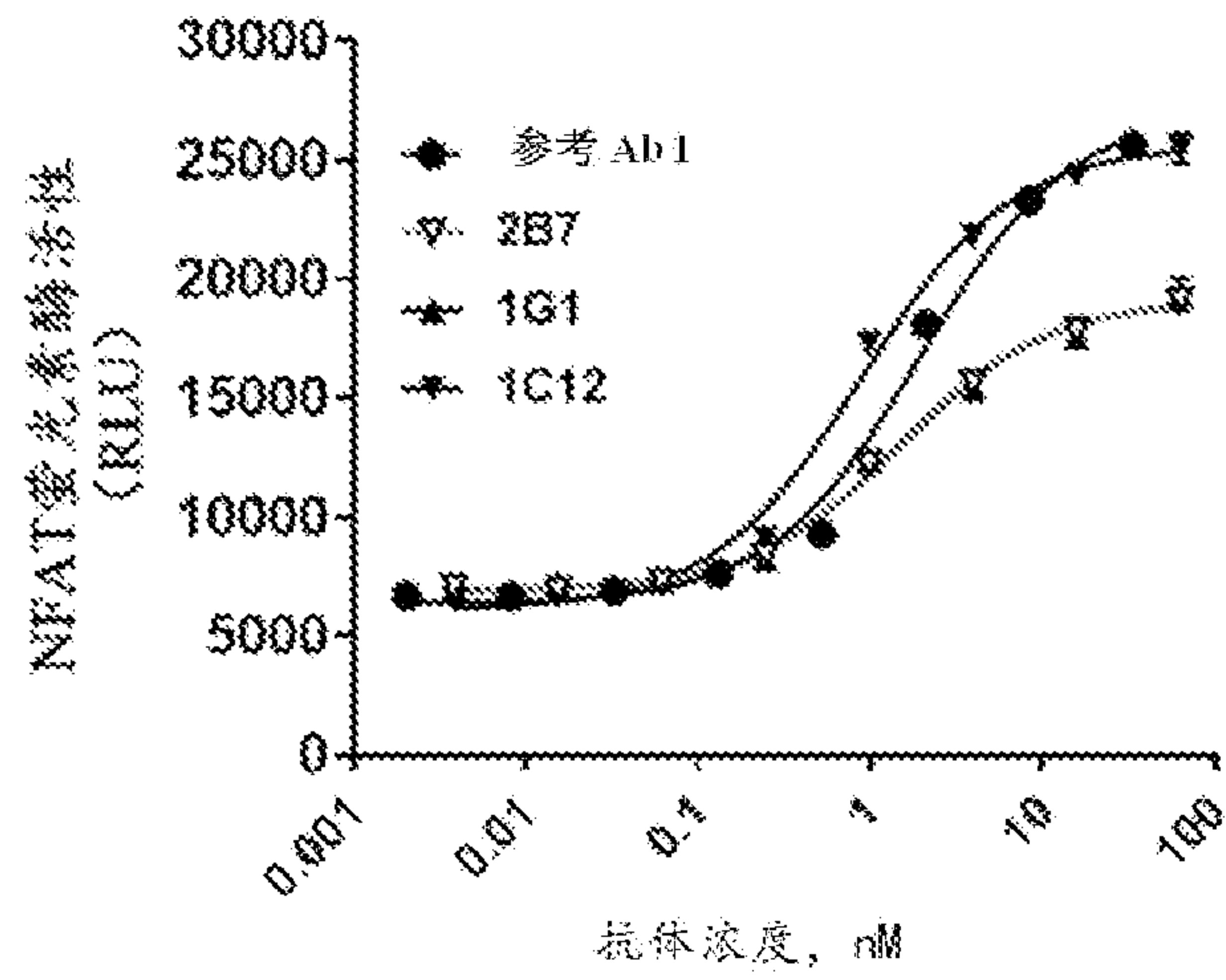


图 2A

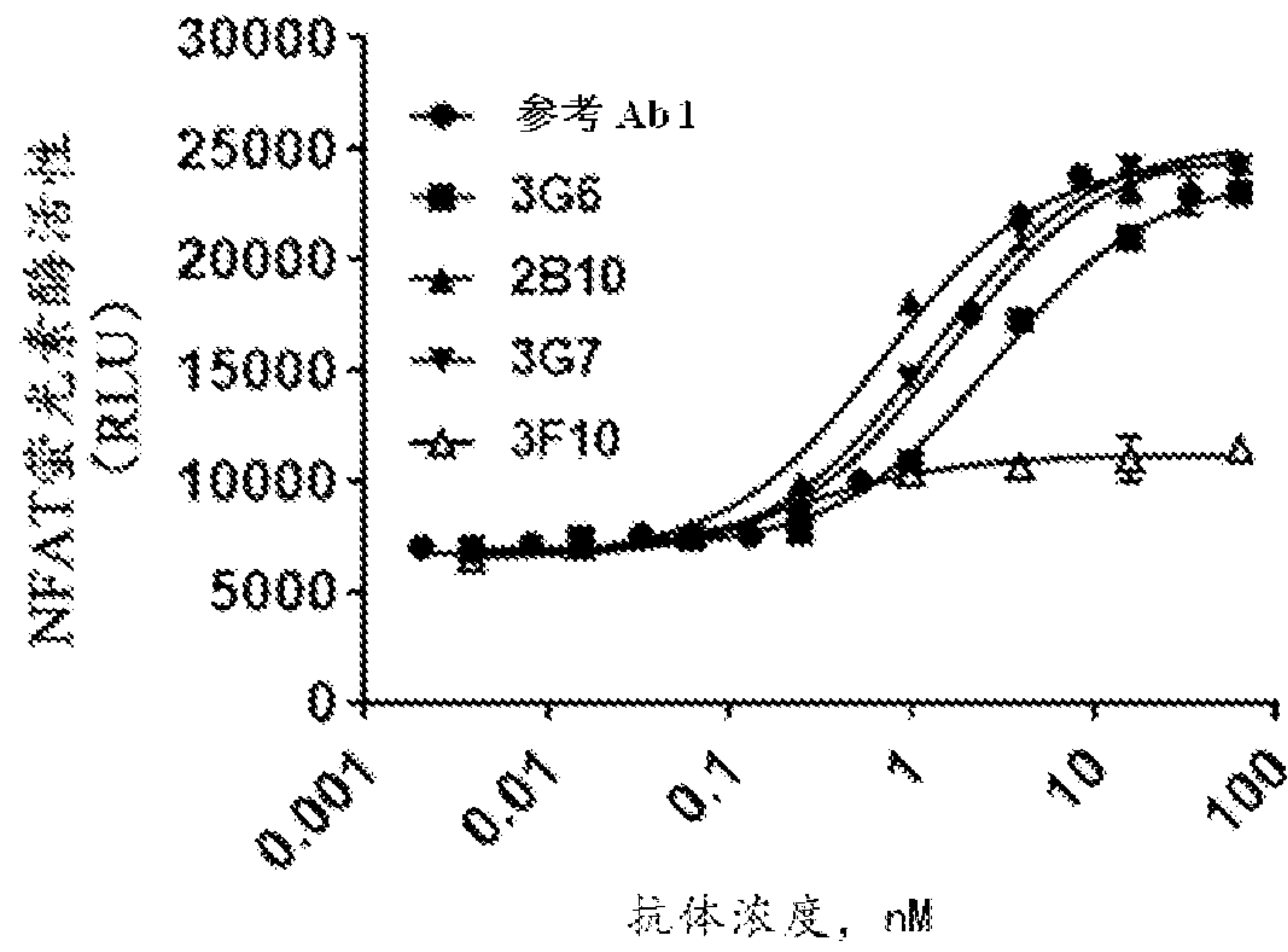


图 2B

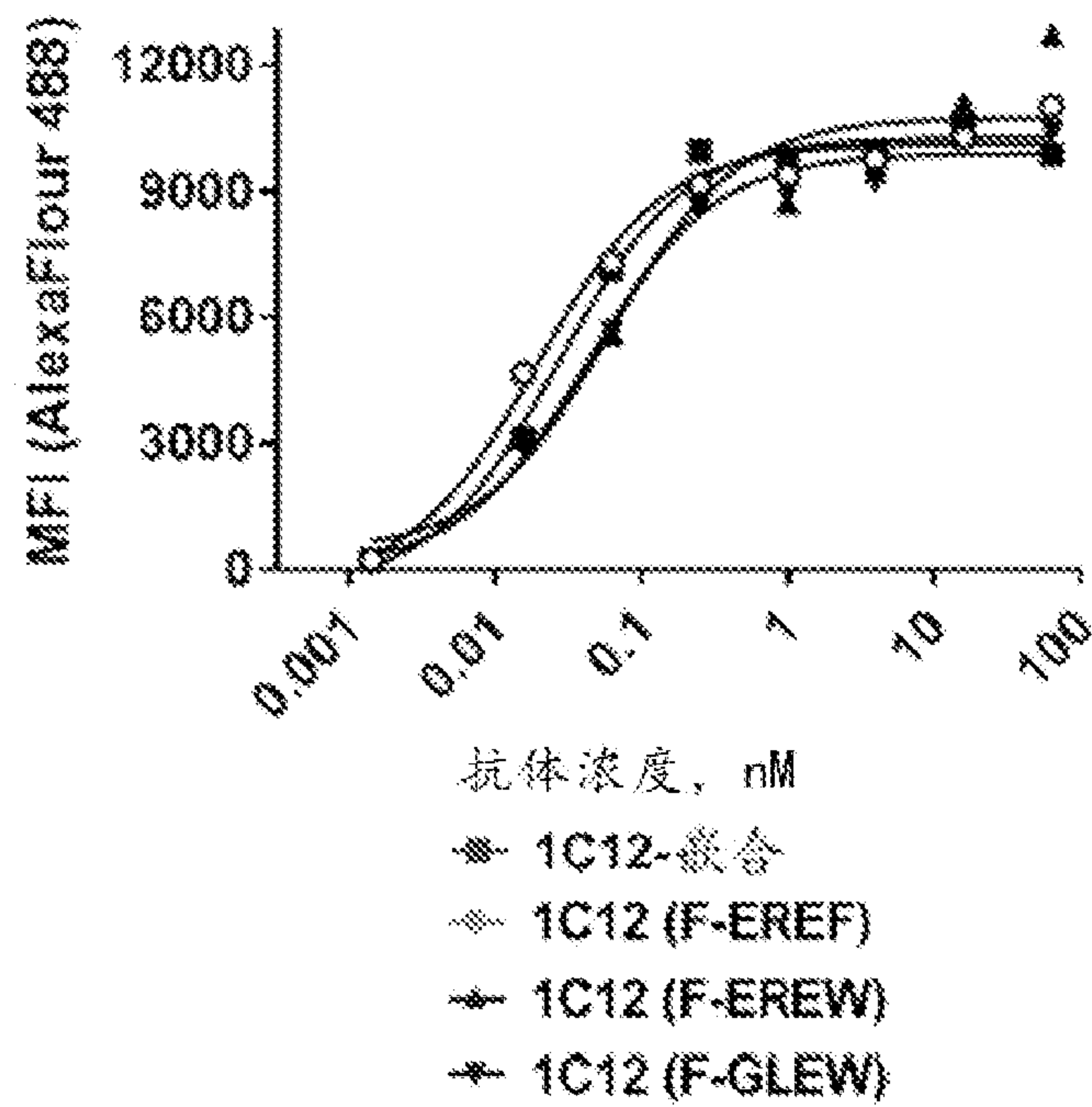


图 3A

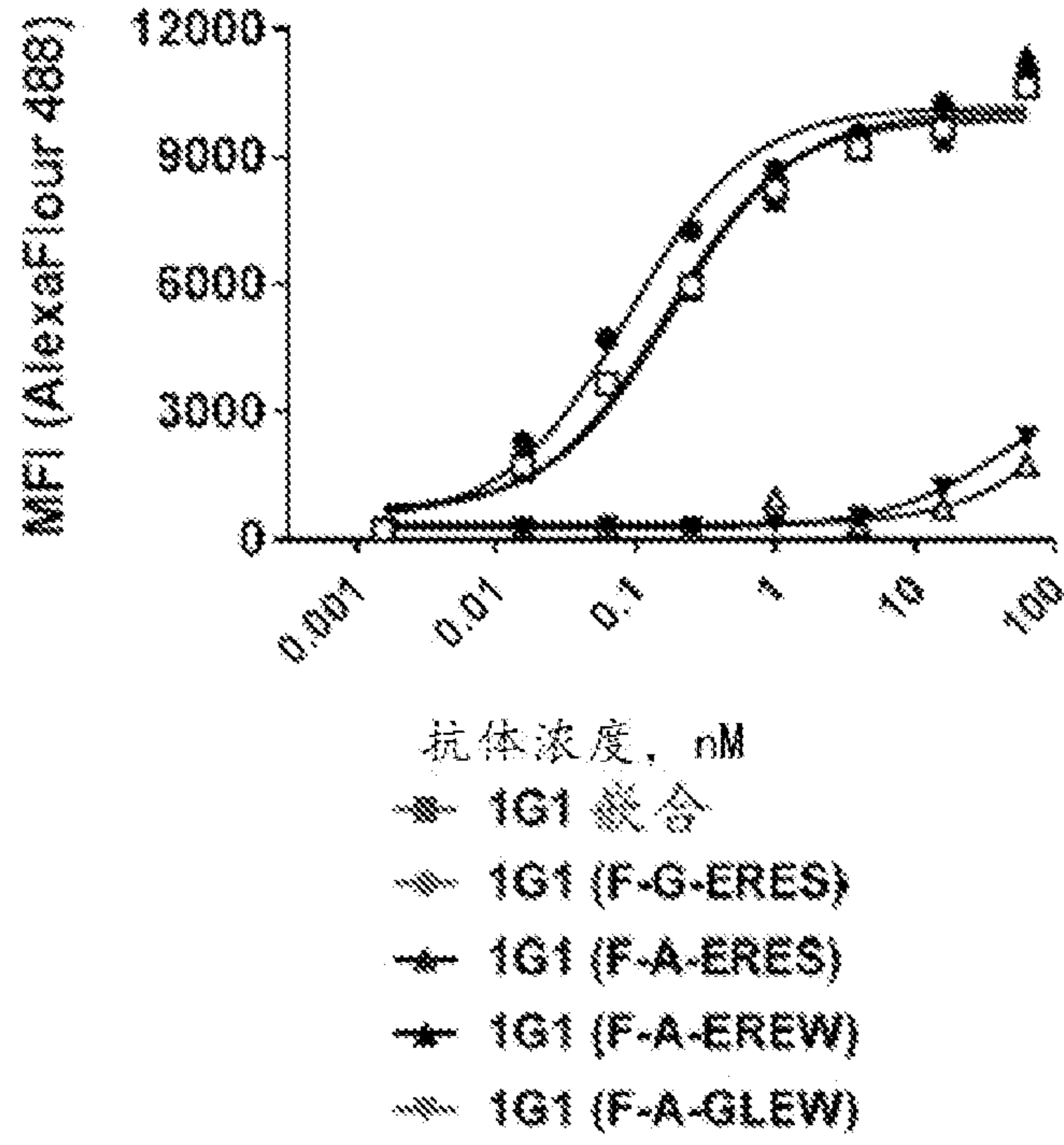


图 3B

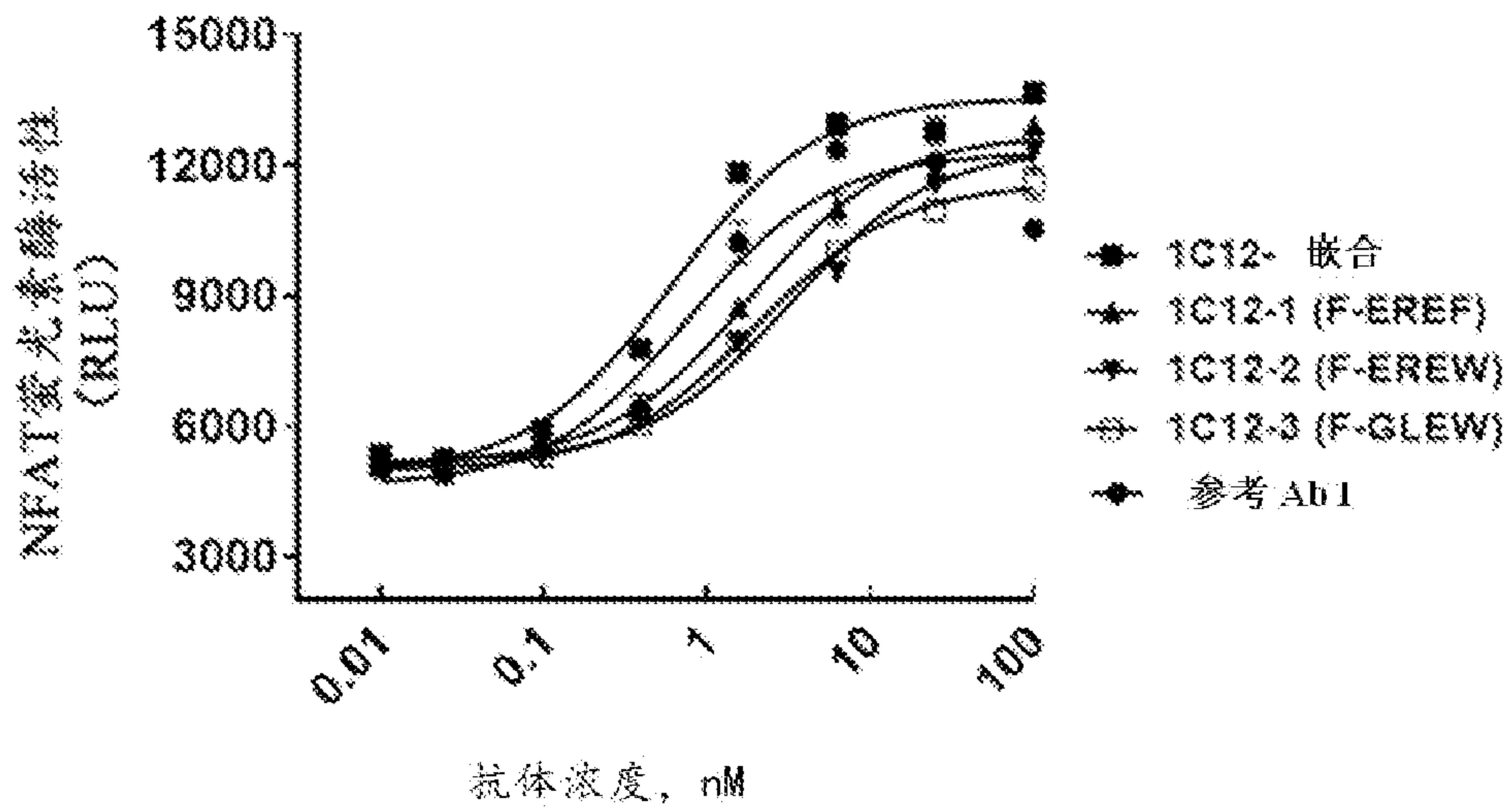


图 4A

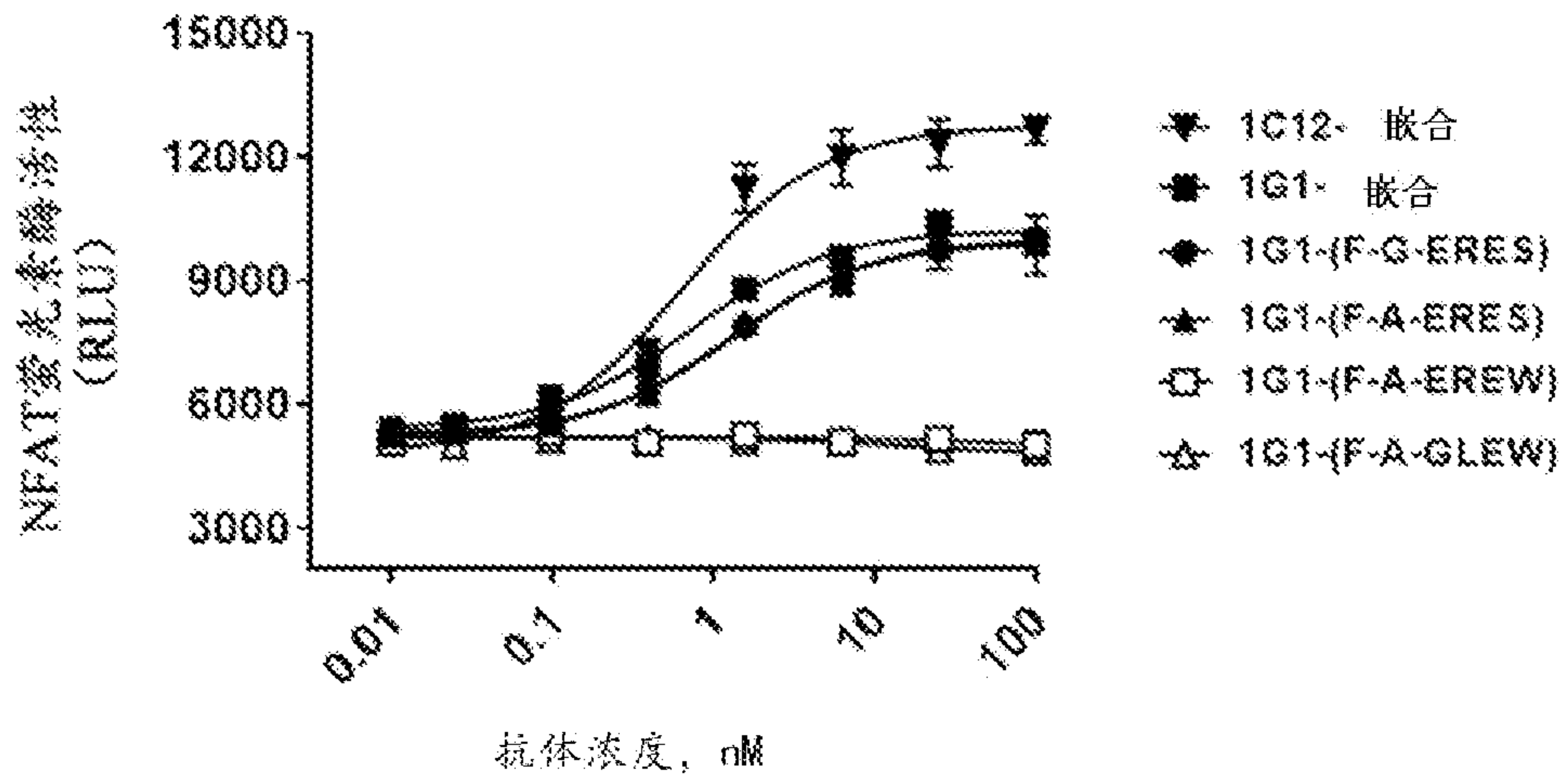


图 4B

全细胞结合和阻断ELISA的相关性

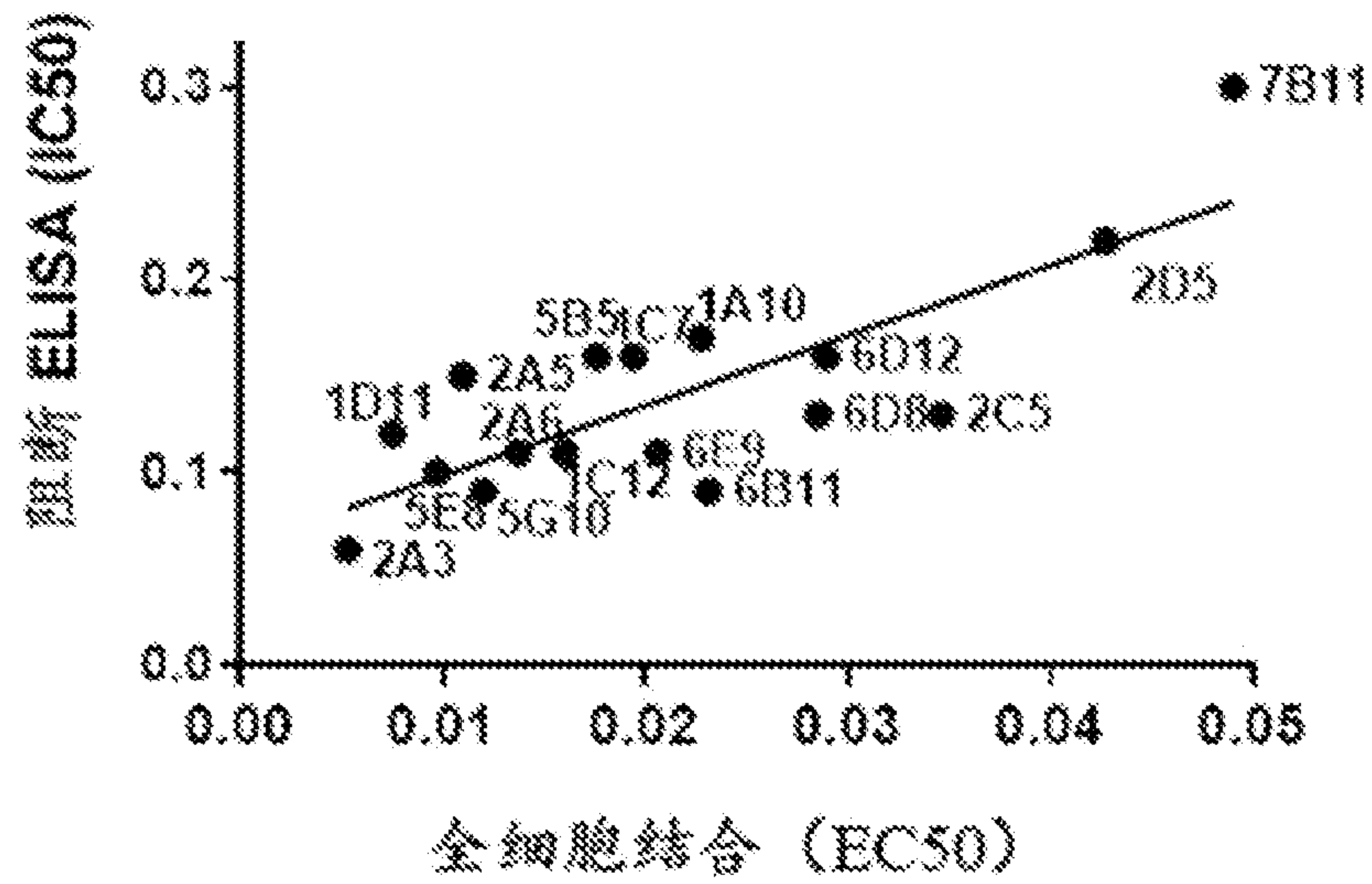


图 5

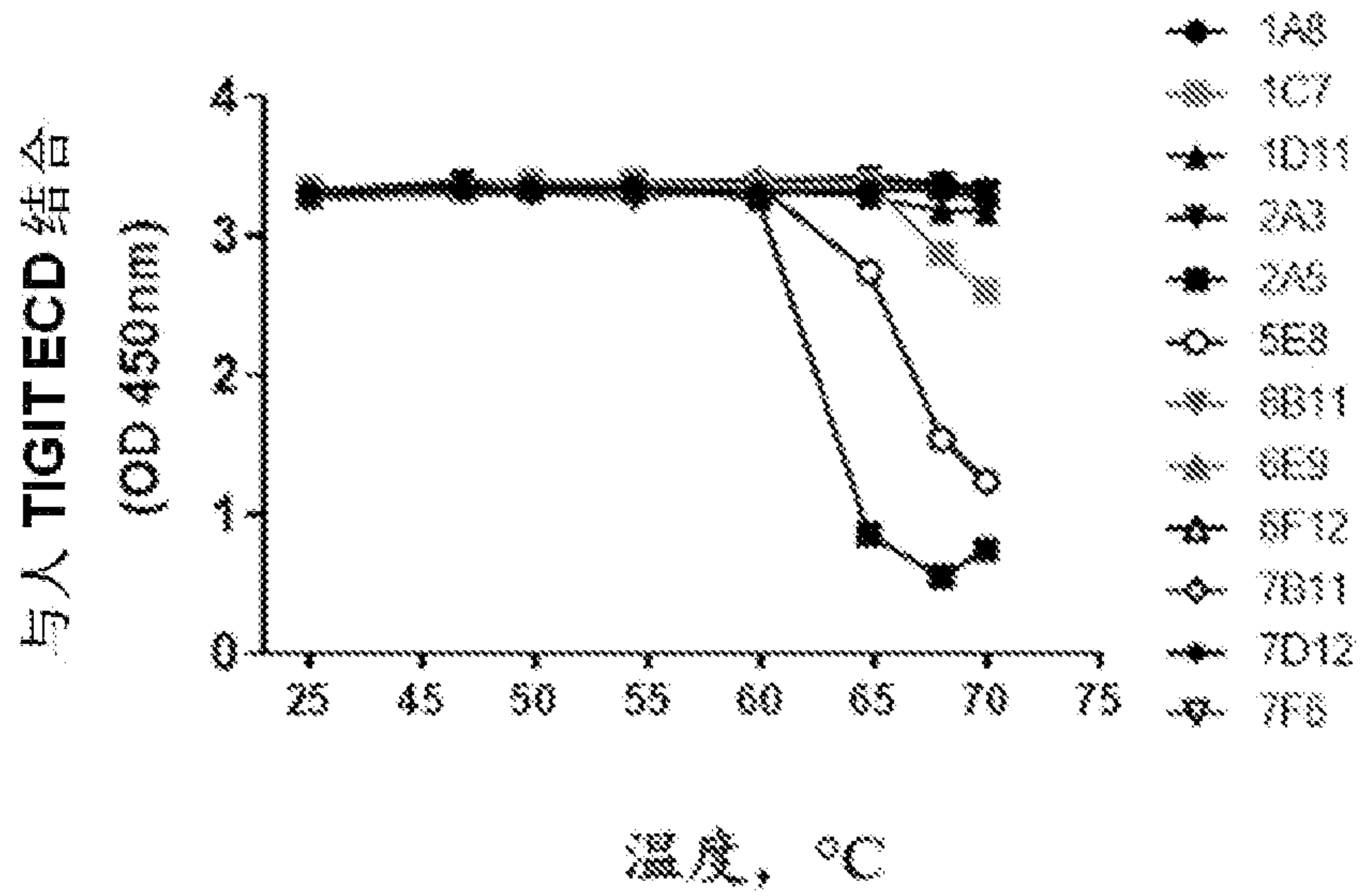


图 6A

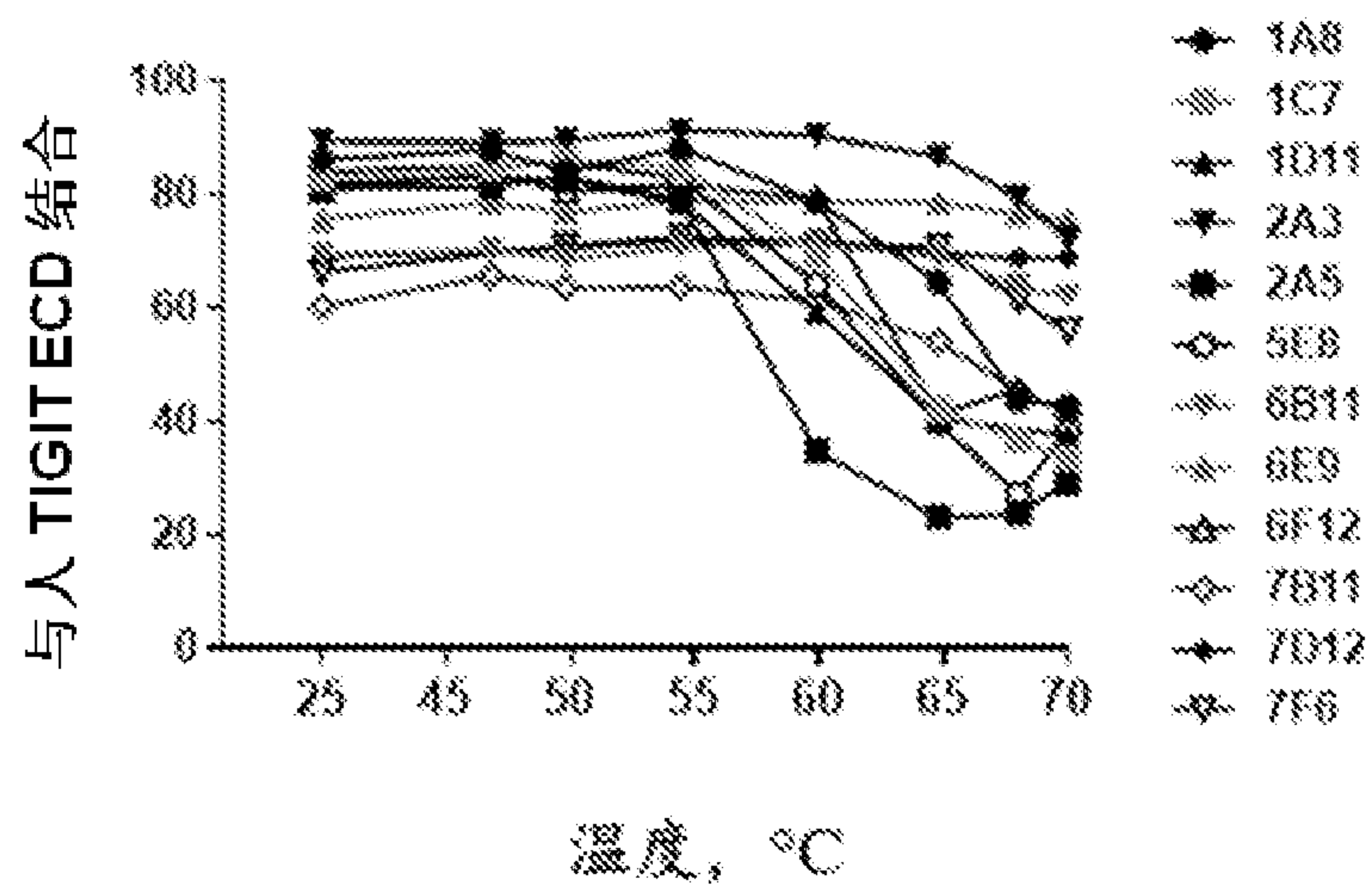


图 6B

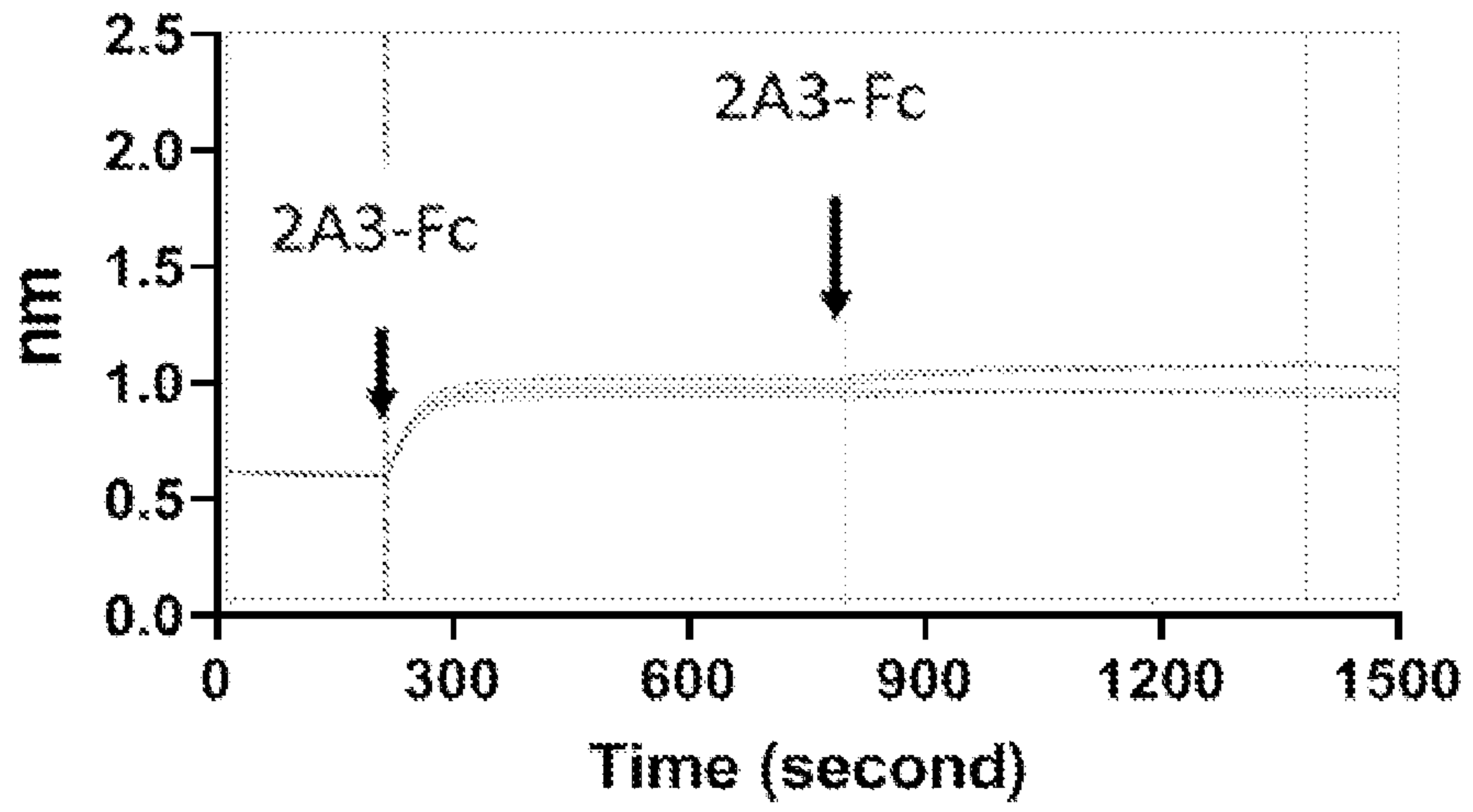


图 7A

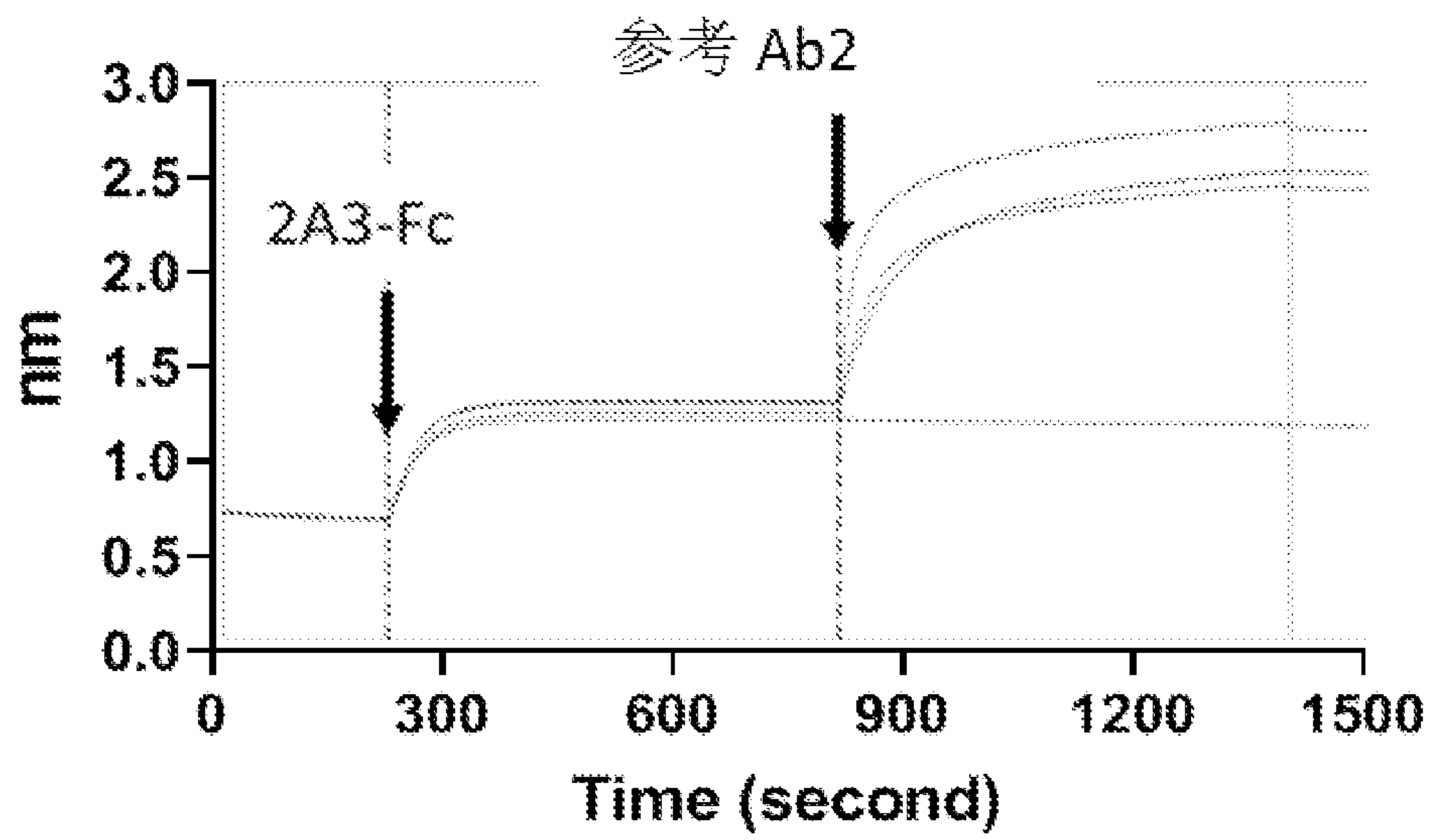


图 7B

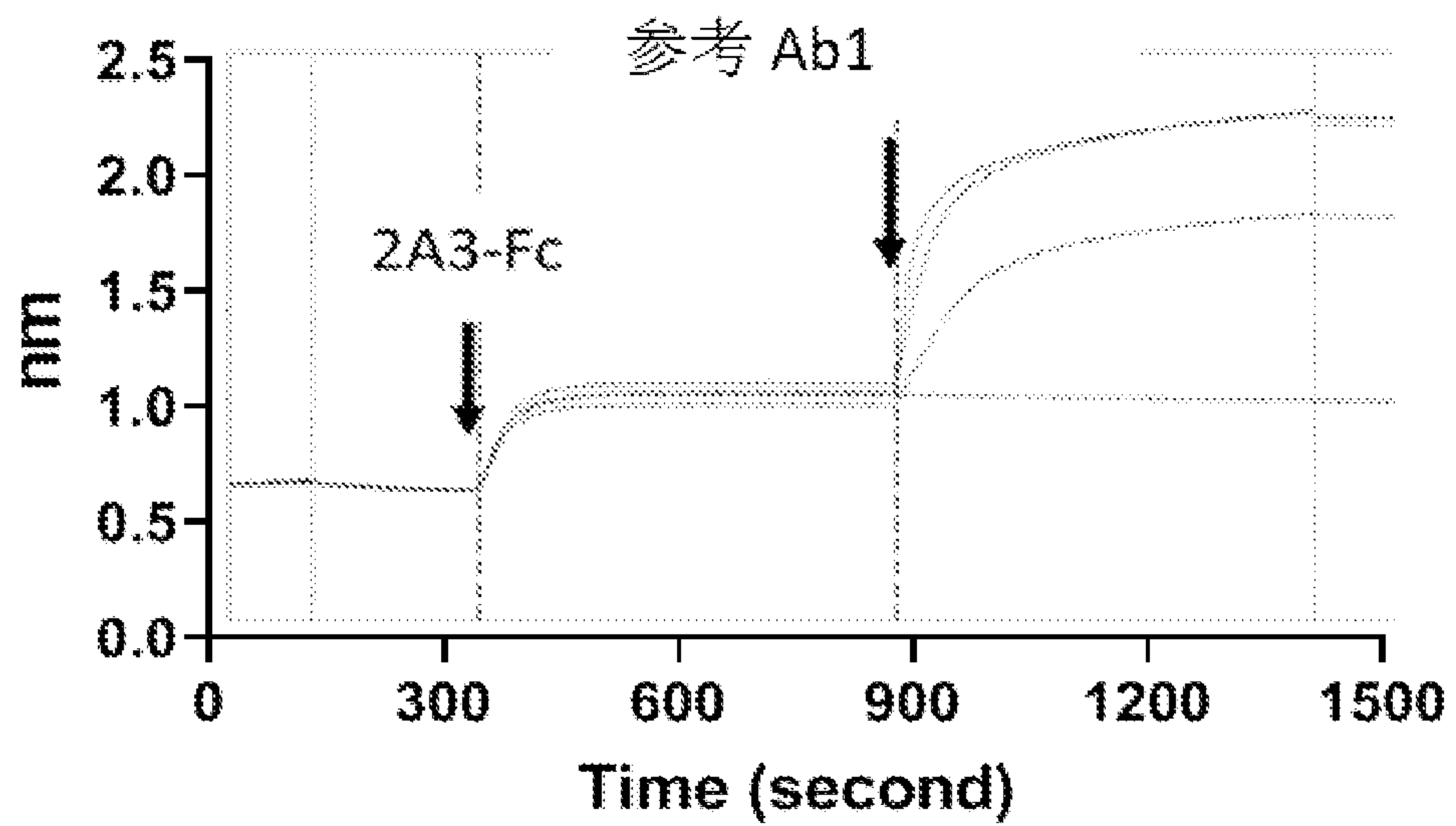


图 7C

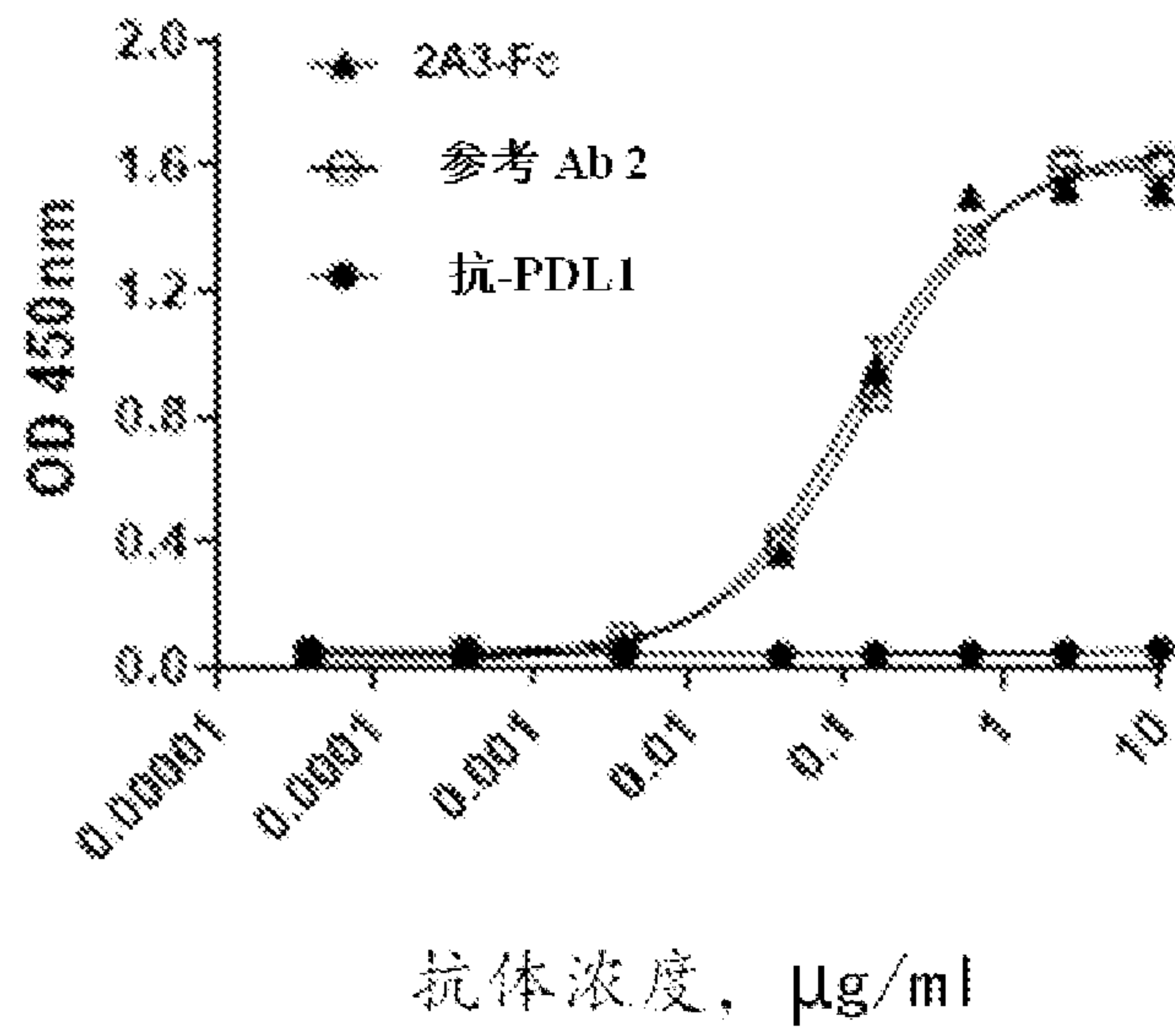


图 8A

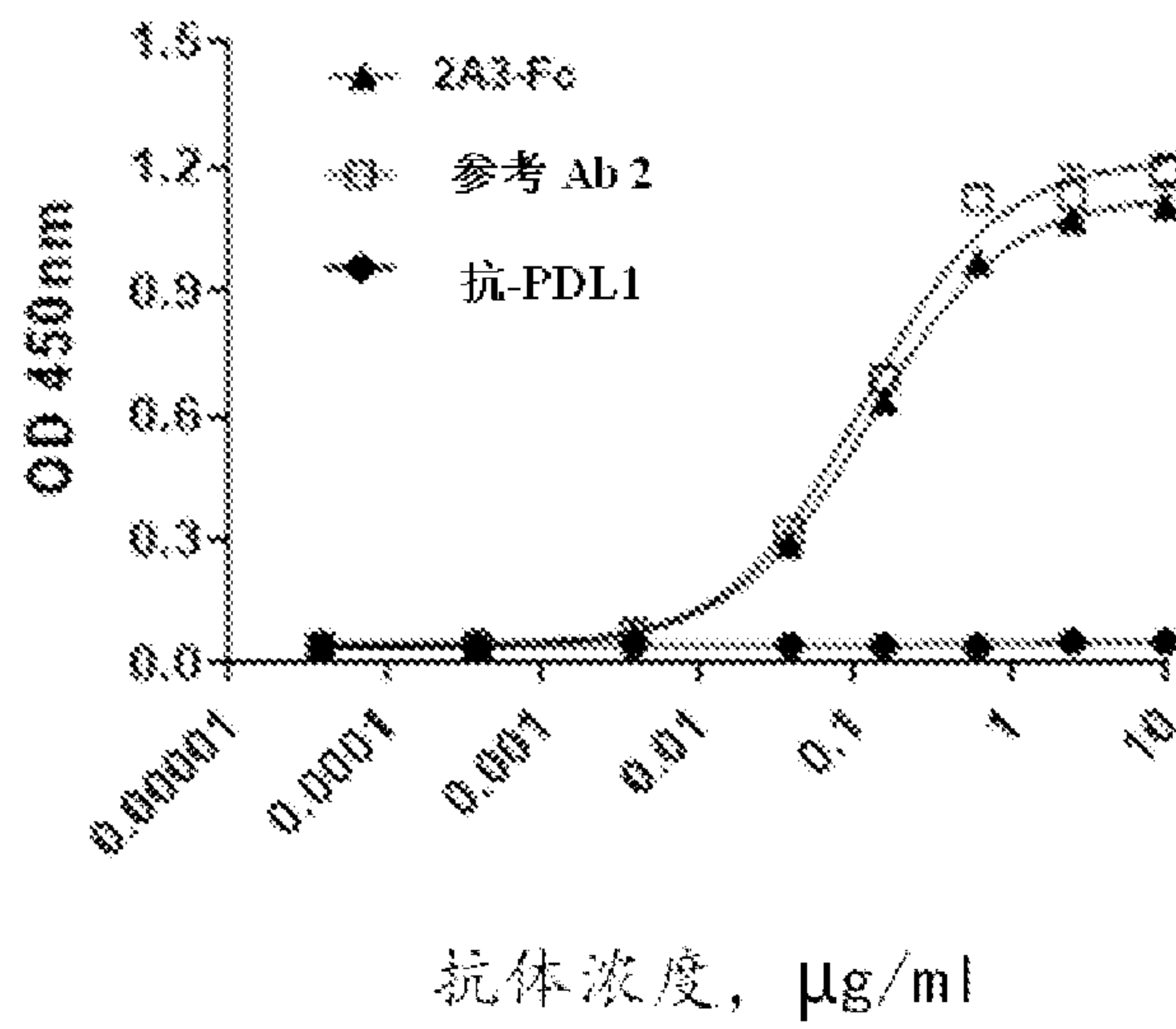


图 8B

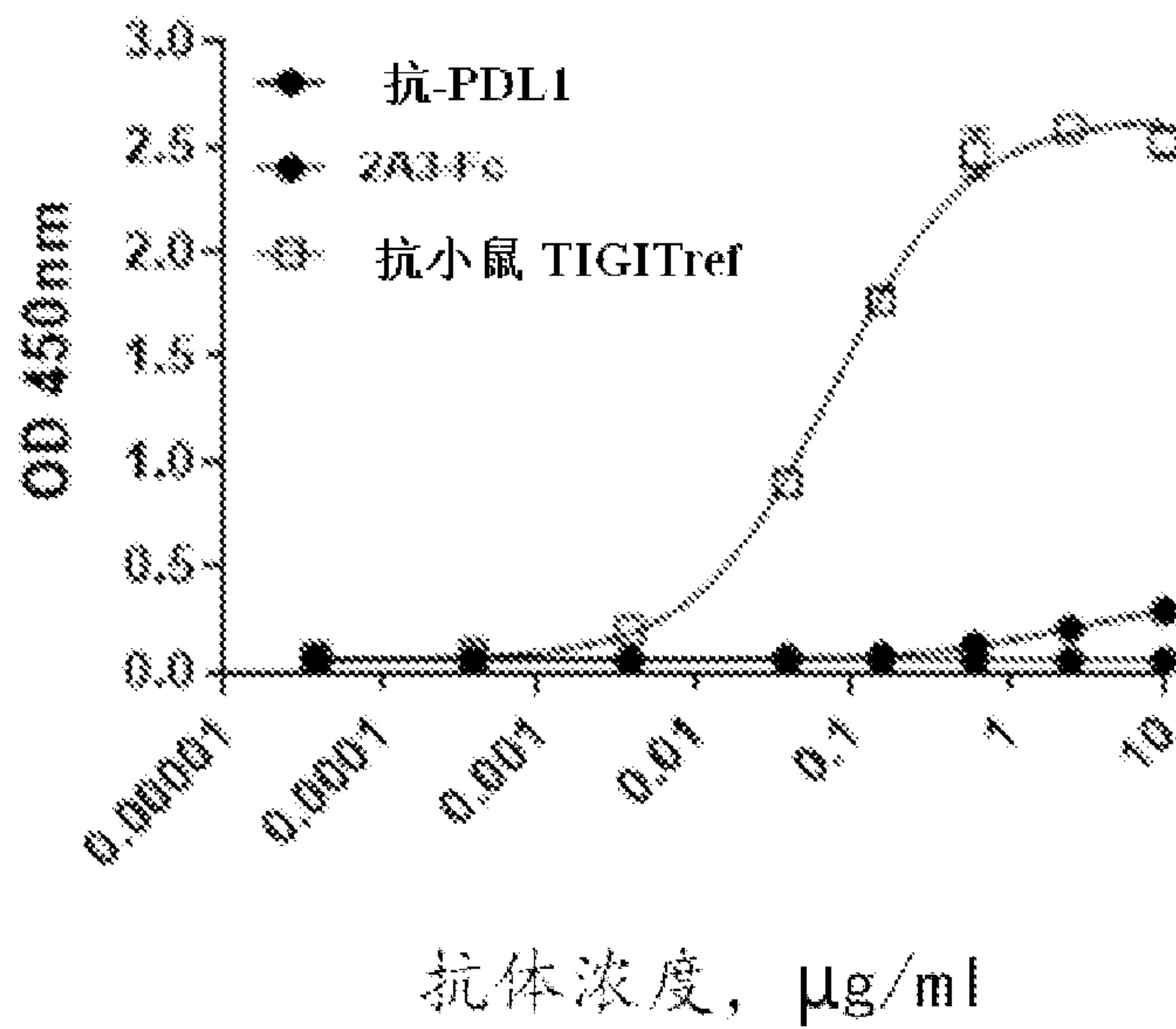


图 8C

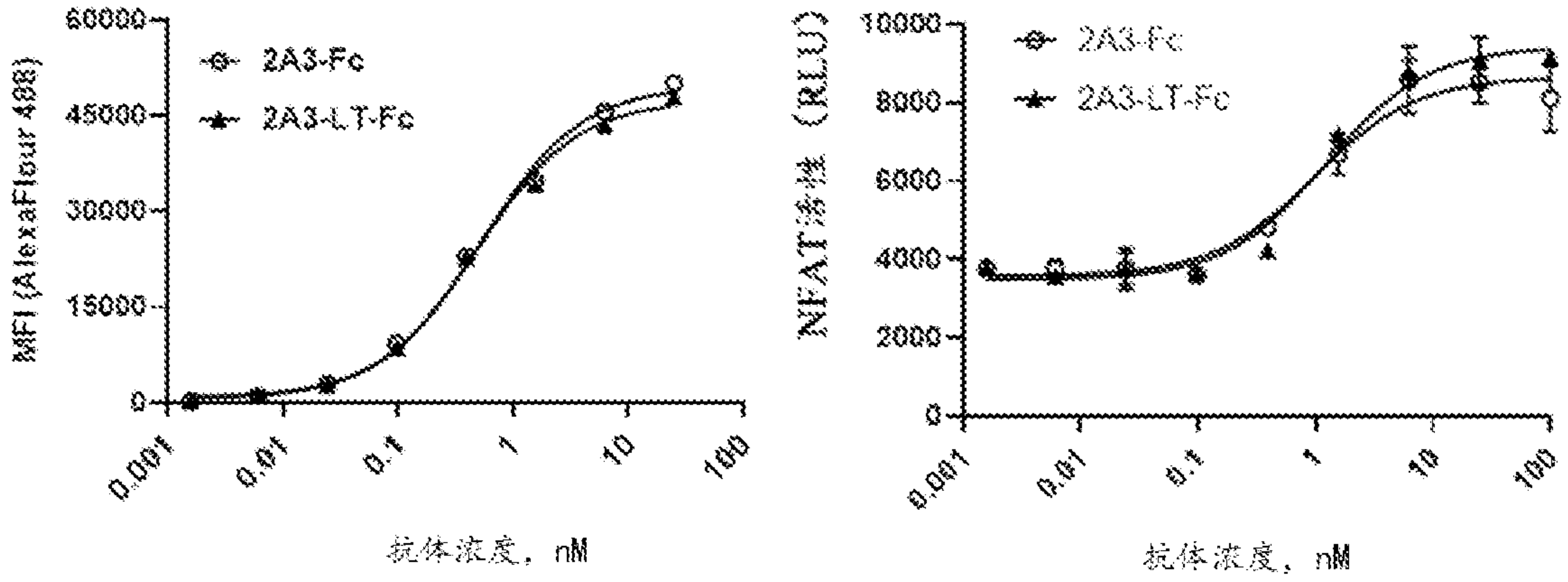


图 9

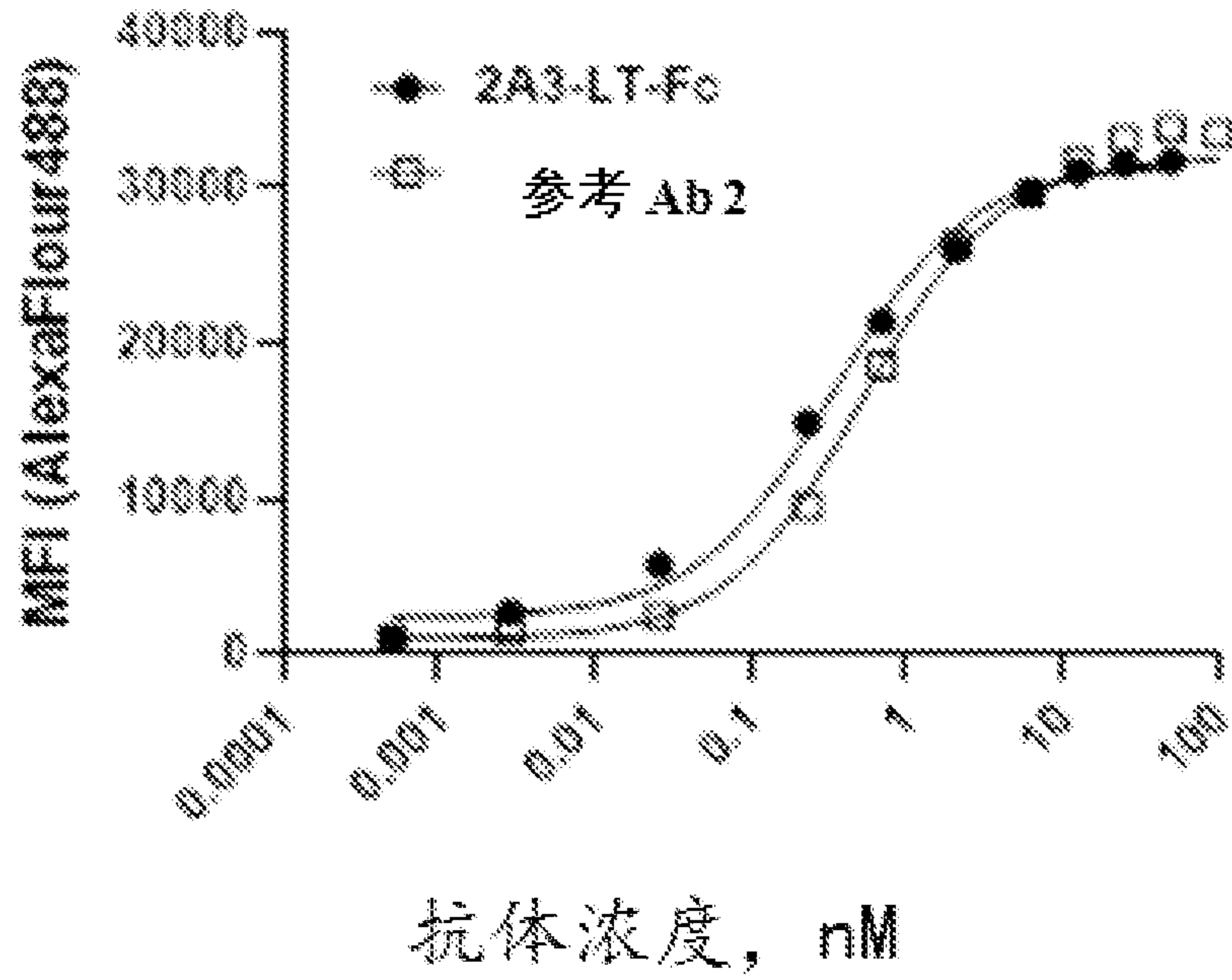


图 10A

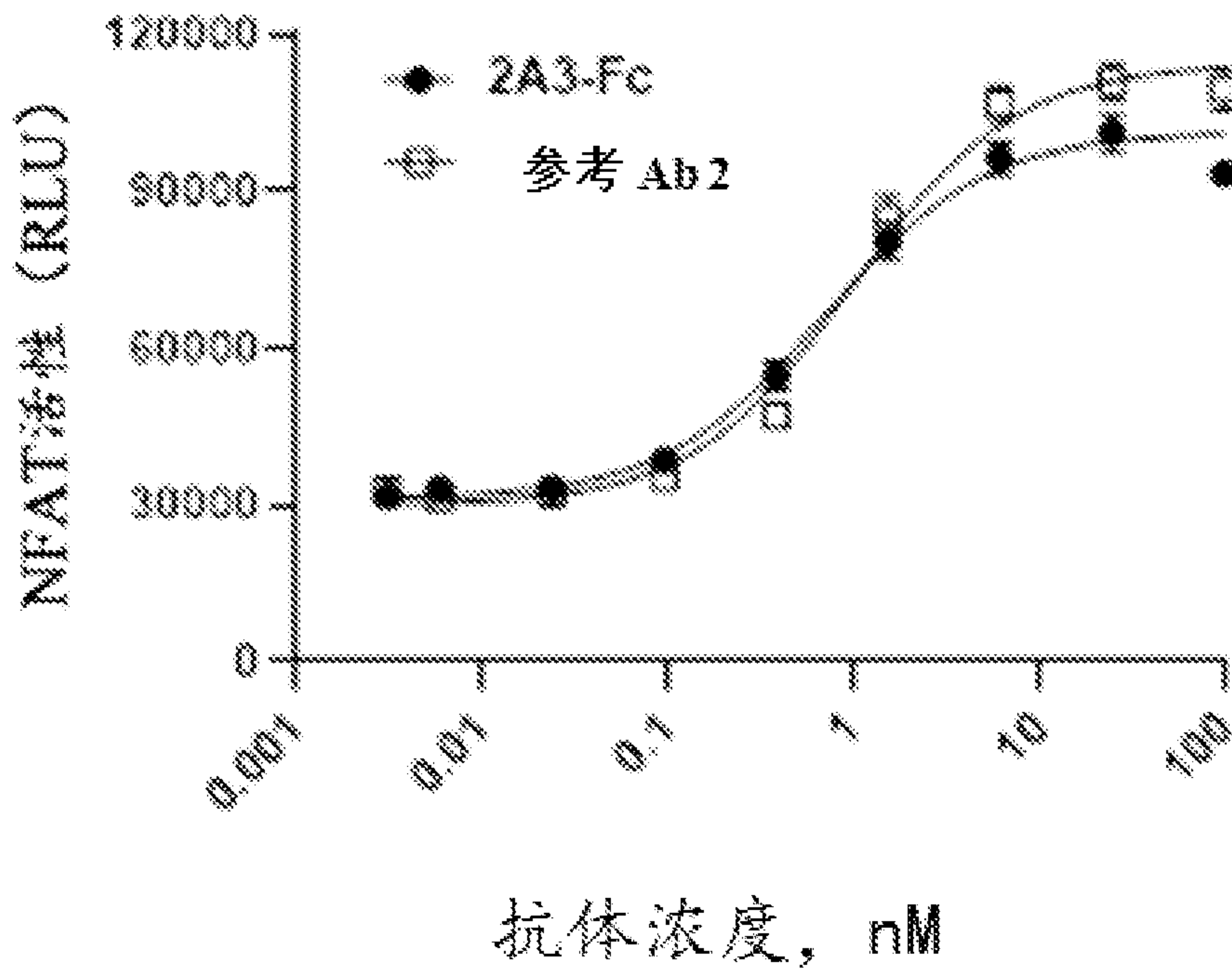


图 10B

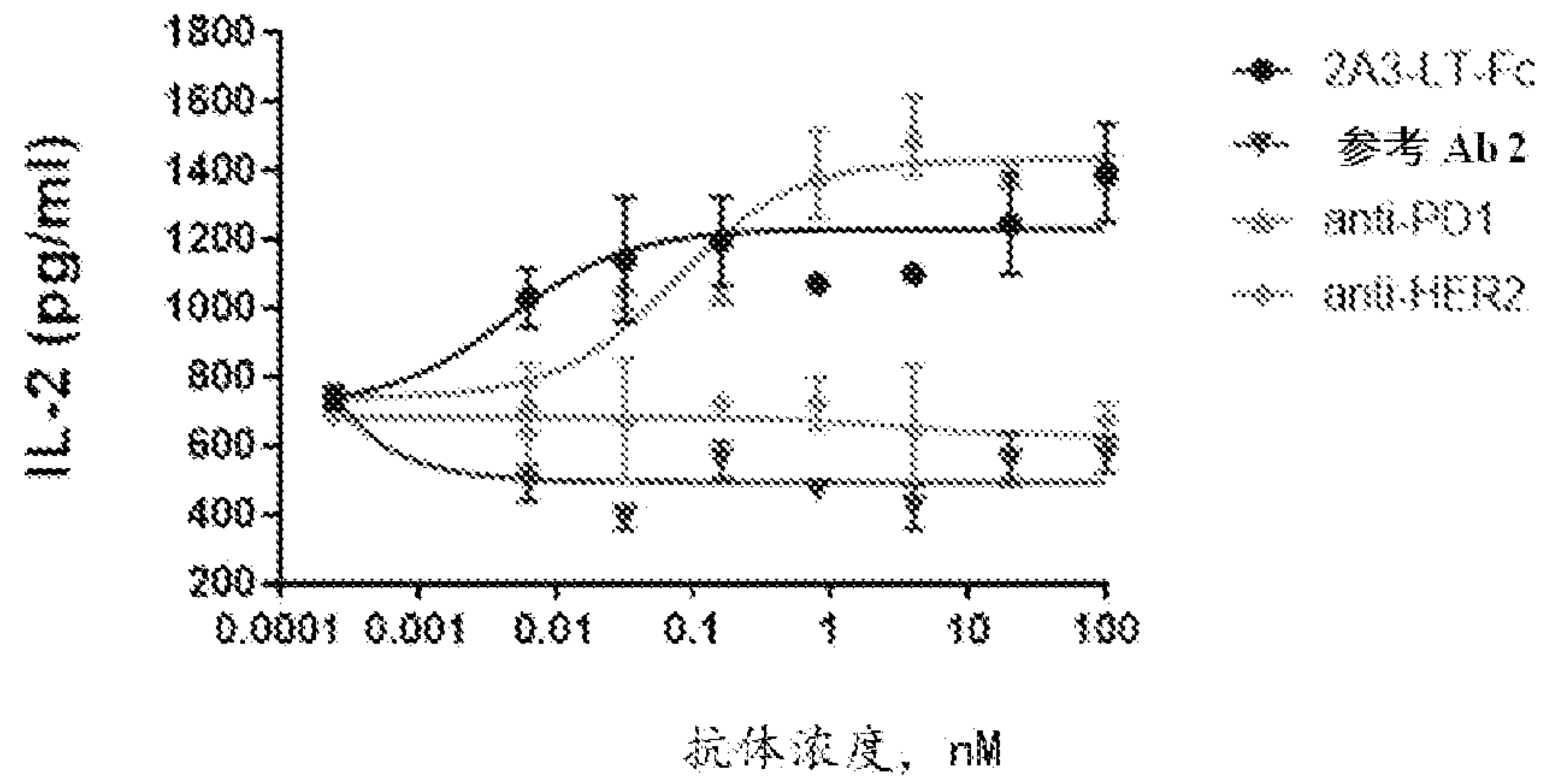
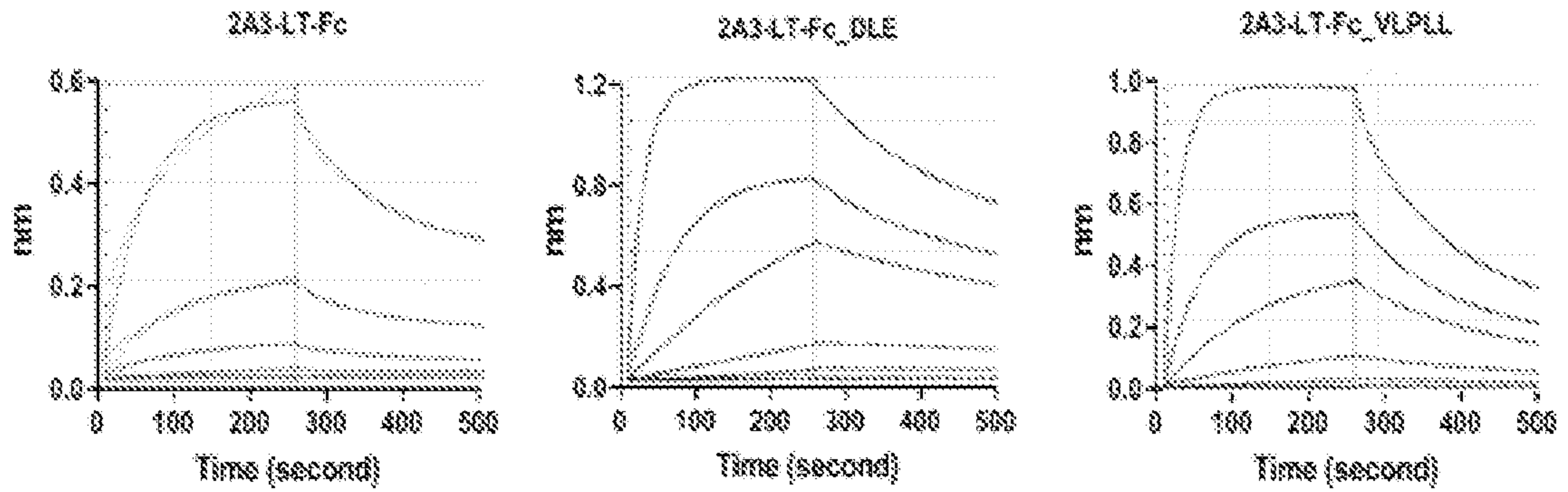
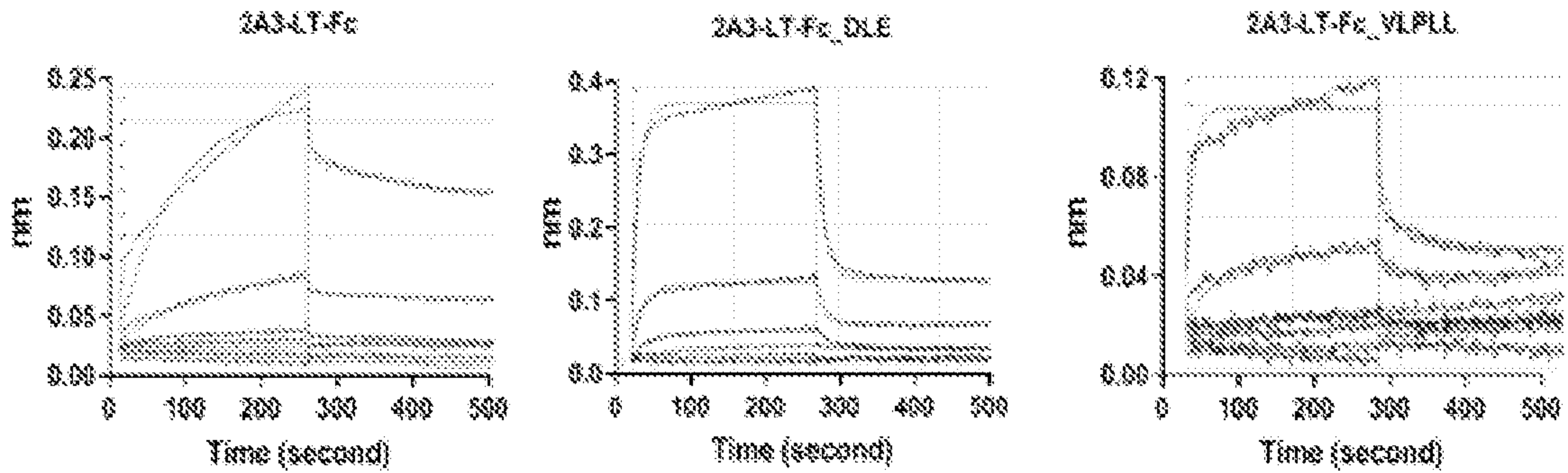


图 11

h-FcγRIIIA 結合



h-FcγRIIB 結合



m-FcγRIV 結合

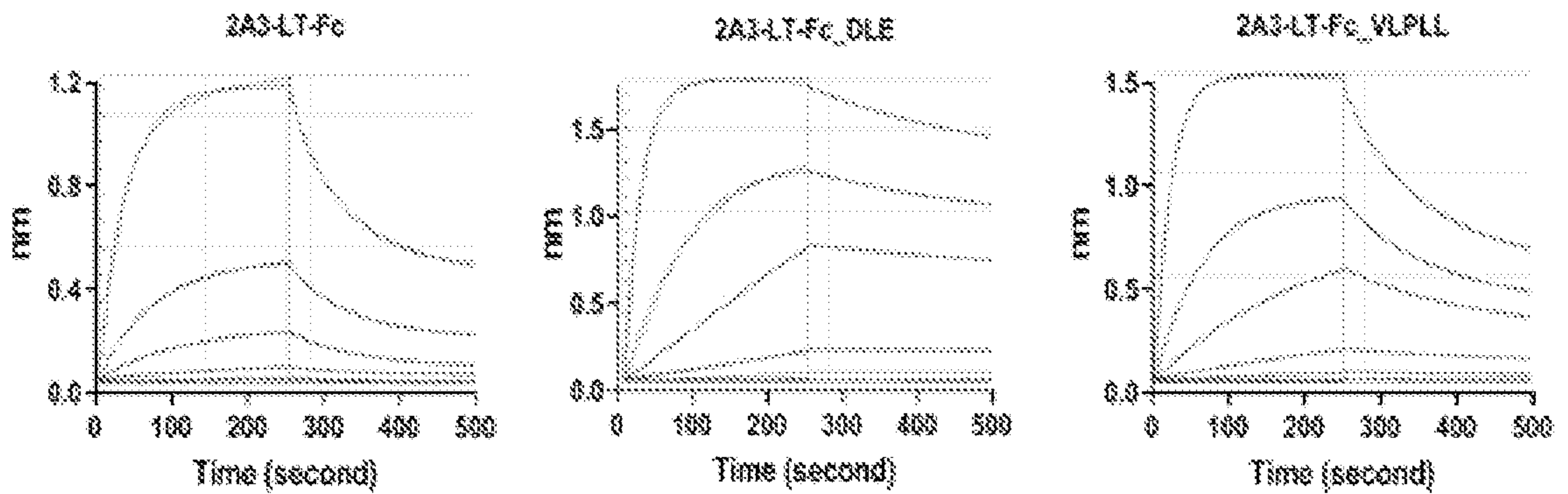


图 12

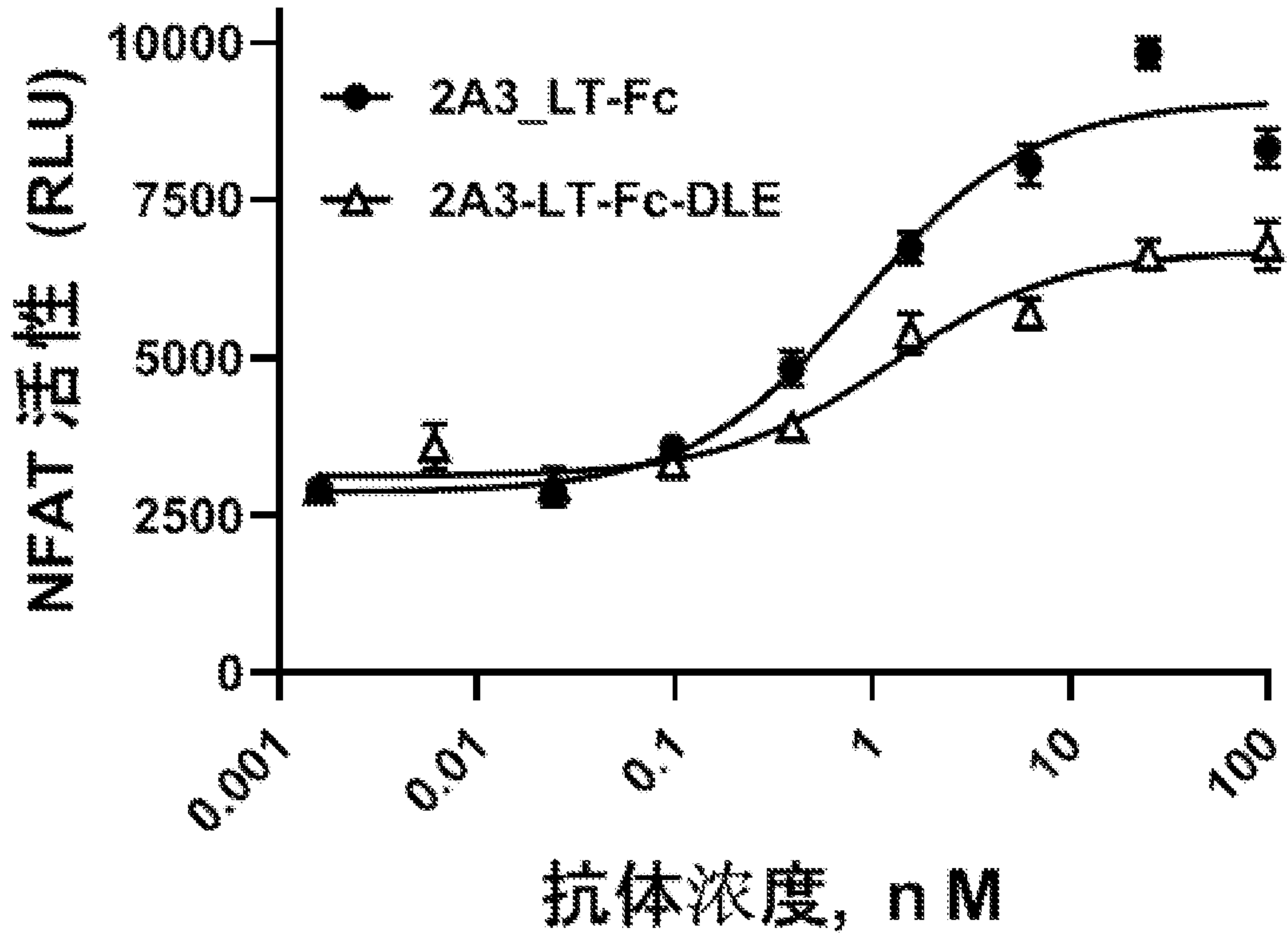


图 13A

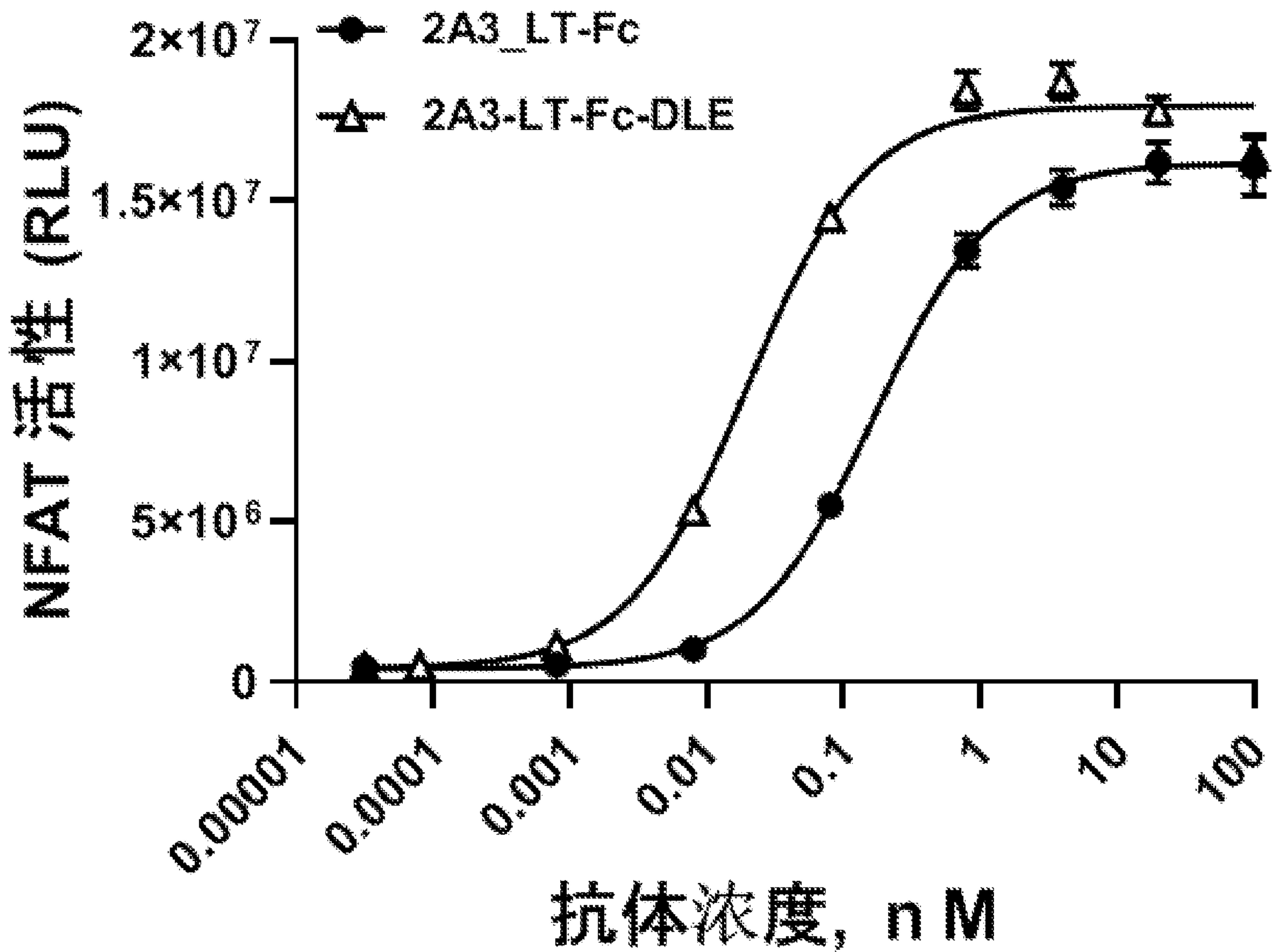


图 13B

肿瘤生长

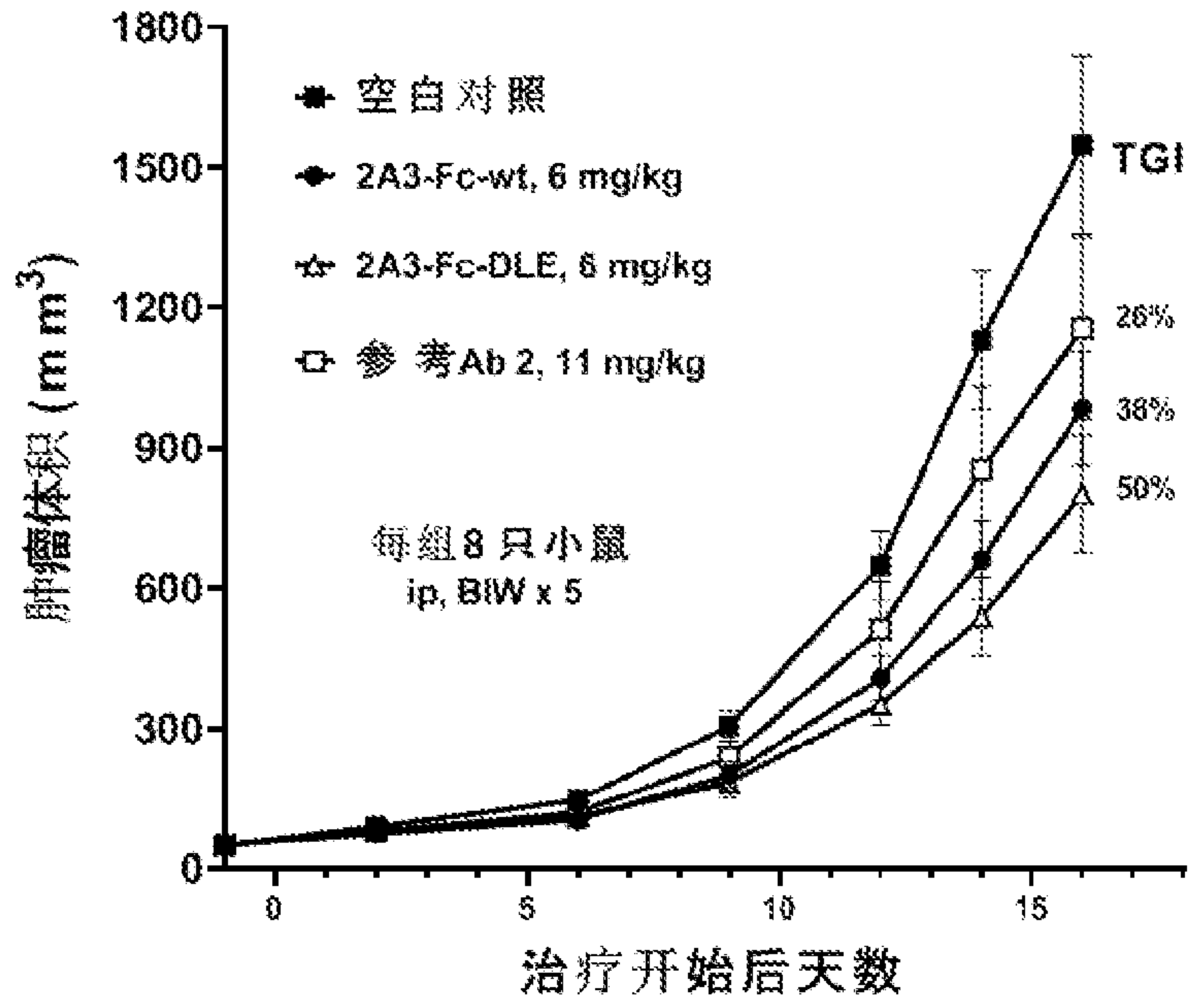


图 14A

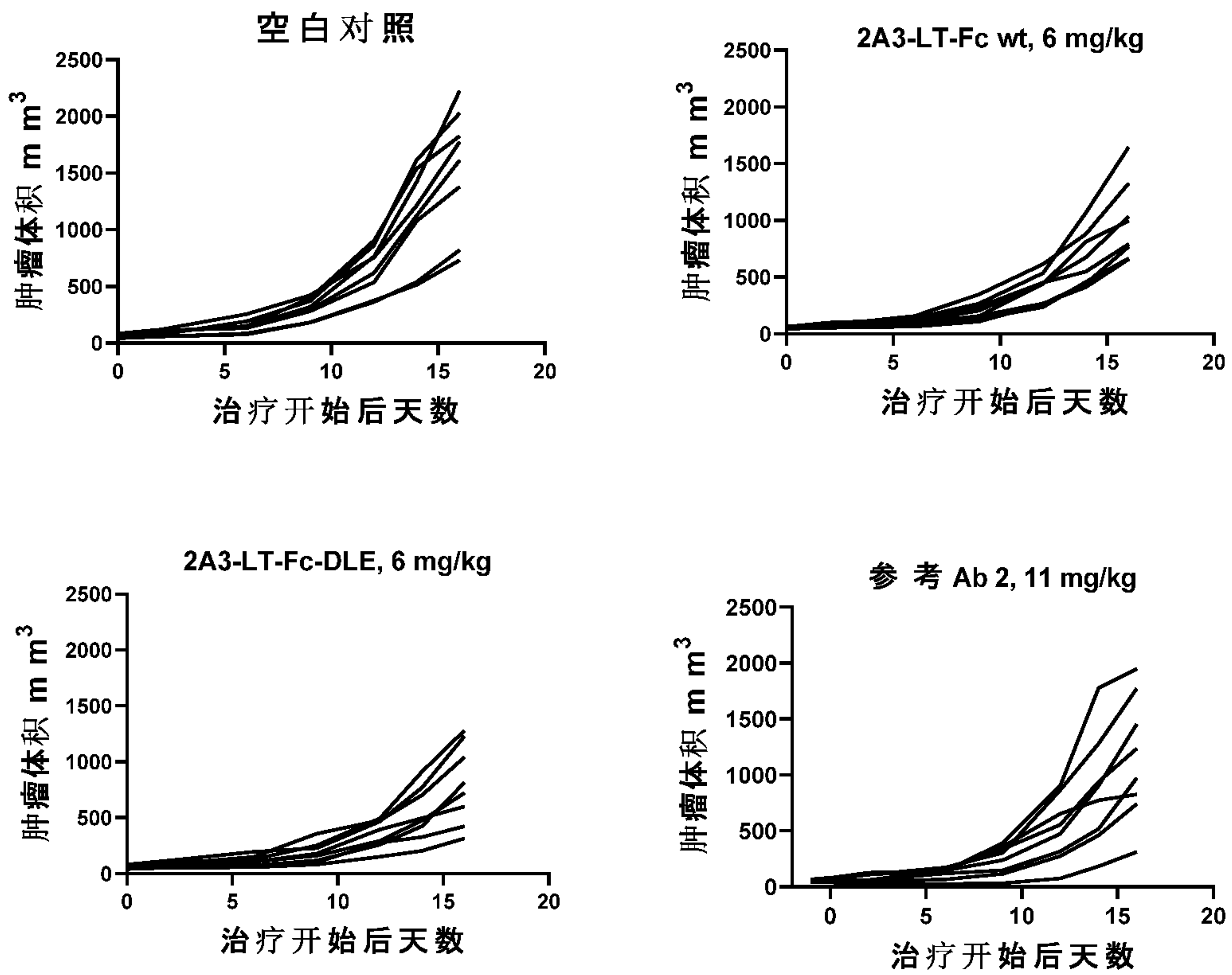


图 14B

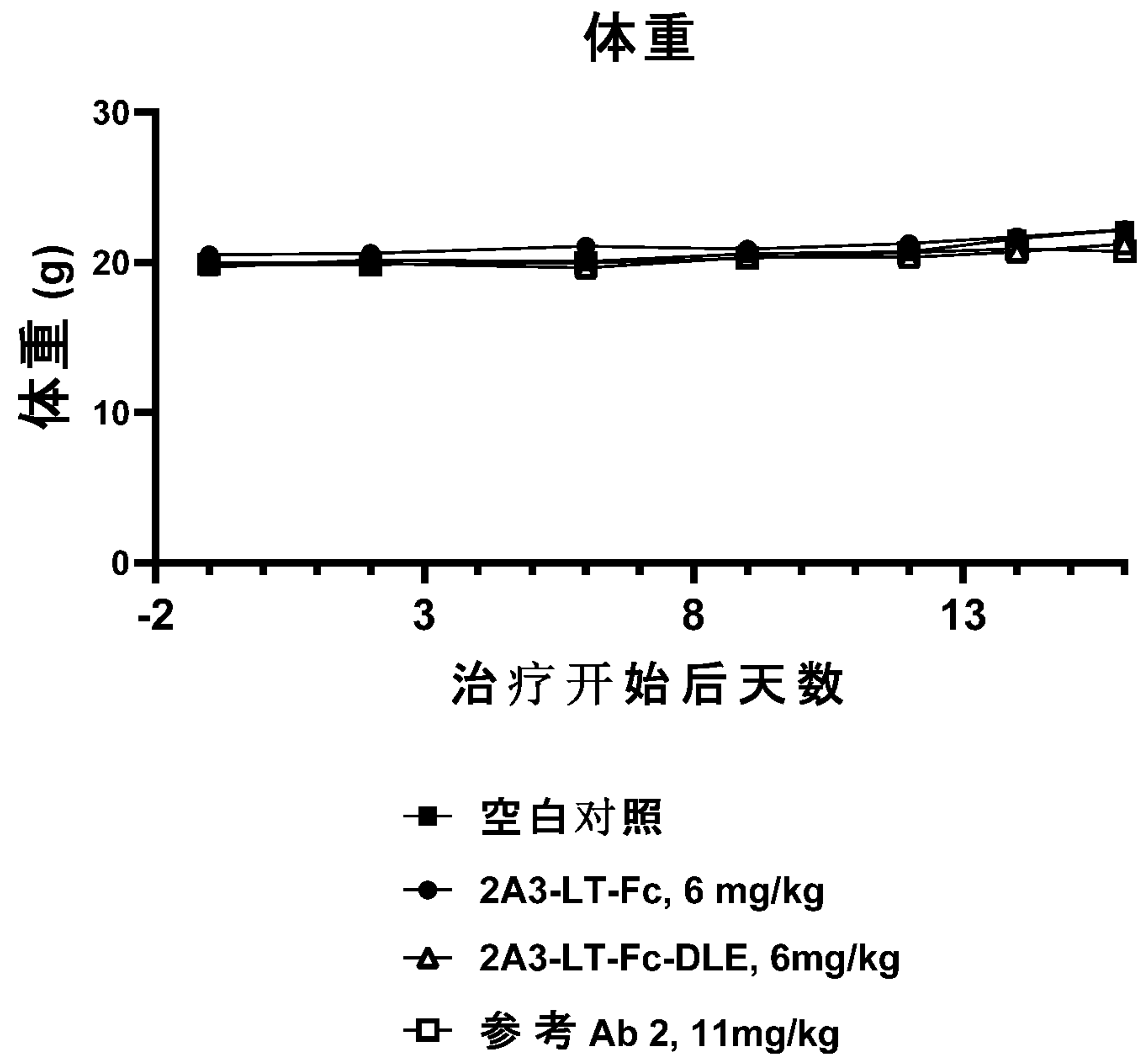


图 14C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/070903**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

C07K 16/28(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i;
A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

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; C12N; A61K; A61P

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)

CNABS; CNKI; CNTXT; DWPI; SIPOABS; EPTXT; USTXT; WOTXT; JPTXT; ISI Web of Science; CA and search terms: TIGIT, Ig, ITIM, T细胞免疫受体, T-cell immunoreceptor, immunoglobulin, immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif, 抗体, antibod+, 单结构域, 单域, sdAb, single domain, VHH etc.; 中国专利生物序列检索系统; CHINESE PATENT BIOLOGICAL SEQUENCE RETRIEVAL SYSTEM; Genbank; EMBL; STN和检索的序列:SEQ ID NOs:94-97等, sequence search on SEQ ID NOs:94-97 etc.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 110818795 A (SHANGHAI HENLIUS BIOTECH, INC.) 21 February 2020 (2020-02-21) claims 1-18, and description, paragraphs [0003]-[0031]	1-9 (in part), 10, 35(in part), 36, 64-107 (in part)
A	WO 2019129221 A1 (NANJING LEGEND BIOTECH CO., LTD.) 04 July 2019 (2019-07-04) see entire document	1-9 (in part), 10, 35(in part), 36, 64-107 (in part)
A	CN 108137691 A (YISSUM RESEARCH DEVELOPMENT COMPANY OF THE HEBREW UNIVERSITY OF JERUSALEM LTD. et al.) 08 June 2018 (2018-06-08) see entire document	1-9 (in part), 10, 35(in part), 36, 64-107 (in part)
A	CN 108290946 A (F HOFFMANN-LA ROCHE AG) 17 July 2018 (2018-07-17) see entire document	1-9 (in part), 10, 35(in part), 36, 64-107 (in part)

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

26 March 2021

Date of mailing of the international search report

09 April 2021

Name and mailing address of the ISA/CN

**China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing
100088
China**

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/070903

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 108368176 A (POTENZA THERAPEUTICS INC.) 03 August 2018 (2018-08-03) see entire document	1-9 (in part), 10, 35(in part), 36, 64-107 (in part)
.....		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/070903

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 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).
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:

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **93-100**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] PCT Rule 39.1(iv) - a method for treatment of the human or animal body. For the convenience of a search and a written opinion, claim 93 is expected to be "the application of an antibody as claimed in any one of claims 1 to 84, an immune adjuvant as claimed in any one of claims 85 to 87, or a pharmaceutical composition as claimed in claim 88 in the preparation of a drug for reducing the tumor load in a subject." Claim 98 is expected to be "the application of an antibody as claimed in any one of claims 1 to 84, an immune adjuvant as claimed in any one of claims 85 to 87 or a pharmaceutical composition as claimed in claim 88 in the preparation of a drug for the treatment and/or prevention of a neoplasm". Claim 99 is expected to be "the application of an antibody as claimed in any one of claims 1 to 84, an immune adjuvant as claimed in any one of claims 85 to 87, or a pharmaceutical composition as claimed in claim 88 in the preparation of a drug for prolonging the survival of a subject suffering from a neoplasm". The corresponding subject name of claims 94-97 and 100 is expected to be "the application".
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- [1] Invention 1: Claims 1-9 (in part), 10, 35 (in part), 36 and 64-107 (in part), relate to a heavy chain variable region CDR1 comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:94, a heavy chain variable region CDR2 comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:95, a heavy chain variable region CDR3 comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:96 ID NO:96, and the corresponding immunocompounds, pharmaceutical compositions, nucleic acids, vectors, host cells, preparation methods, kits, and pharmaceutical uses thereof.
- [2] Invention 2: Claims 1-9 (in part), 11, 35 (in part), 37 and 64-107 (in part), relate to a heavy chain variable region CDR1 comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:98, a heavy chain variable region CDR2 comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:99, a heavy chain variable region CDR3 comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:100, an antibody comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:100, and the corresponding immunocompounds, pharmaceutical compositions, nucleic acids, vectors, host cells, preparation methods, kits, and pharmaceutical uses thereof.
- [3]
- [4] Invention 25: Claims 1-9 (in part), 34, 35 (in part), 60 and 64-107 (in part), relate to a heavy chain variable region CDR1 comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:190, a heavy chain variable region CDR2 comprising an amino acid having the sequence shown in SEQ ID NO:191, a heavy chain variable region CDR3 comprising an amino acid having the sequence shown in antibodies having the amino acid with the sequence shown in SEQ ID NO:192, and the corresponding immunocompounds, pharmaceutical compositions, nucleic acids, vectors, host cells, preparation methods, kits, and pharmaceutical uses thereof.
- [5] Inventions 26-46: Claims 1-6 (in part) and 61-107 (in part), respectively, relate to a heavy chain variable region CDR1 comprising an amino acid having the sequence shown in one of SEQ ID NO:1, 5,81, a heavy chain variable region CDR2 comprising an amino acid having the sequence shown in one of SEQ ID NO:2, 6,82 one of the sequences shown, a heavy chain variable region CDR3 comprising an antibody having an amino

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

acid having the sequence shown in SEQ ID NO:3, 7,83 one of the sequences shown, and the corresponding immunocompounds, pharmaceutical compositions, nucleic acids, vectors, host cells, preparation methods, kits, and pharmaceutical uses thereof.

- [6] The same or corresponding technical feature of the above 46 inventions is that all said antibodies are single structural domain antibodies that bind to TIGIT. However, single structural domain antibodies that bind to TIGIT have been disclosed by the prior art (see WO 2019129221 A1, publication date: the 4th of July, 2019 (04.07.2019)) and the disclosed antibodies can have a KD value of 1.2E-10M for binding to human TIGIT. Therefore, the above 46 inventions do not share a same or corresponding specific technical feature that makes the invention's contribution over the prior art, do not belong to a single general inventive concept. Thus, the present application does not meet the requirement of unity of invention as defined in PCT Rule 13.1.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **Claims 1-9 (in part), 10, 35 (in part), 36, and 64-107 (in part)**

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/070903

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	110818795	A	21 February 2020	CN	110818795	B	24 April 2020
WO	2019129221	A1	04 July 2019	IL	275575	D0	31 August 2020
				TW	201930358	A	01 August 2019
				CA	3082280	A1	04 July 2019
				SG	11202004158Q	A	29 June 2020
				AU	2018396970	A1	13 August 2020
				EP	3732202	A1	04 November 2020
				CN	111699198	A	22 September 2020
				KR	20200104333	A	03 September 2020
CN	108137691	A	08 June 2018	JP	2018532383	A	08 November 2018
				US	2018185480	A1	05 July 2018
				EP	3344658	A1	11 July 2018
				WO	2017037707	A1	09 March 2017
				CA	2997130	A1	09 March 2017
CN	108290946	A	17 July 2018	JP	2020074778	A	21 May 2020
				IL	257636	D0	30 April 2018
				HK	1258058	A1	01 November 2019
				RU	2018114523	A3	25 October 2019
				NZ	739750	A	29 November 2019
				BR	112018005862	A2	16 October 2018
				CO	2018004090	A2	30 November 2018
				KR	20180053742	A	23 May 2018
				AU	2016325610	B2	10 October 2019
				MX	2018003633	A	01 August 2018
				US	10017572	B2	10 July 2018
				US	2019119376	A1	25 April 2019
				JP	6764474	B2	30 September 2020
				SG	10202007764T	A	29 September 2020
				CR	20180225	A	09 July 2018
				ZA	201800941	B	29 May 2019
				PH	12018500608	A1	01 October 2018
				CL	2018000744	A1	06 July 2018
				CL	2020000938	A1	14 August 2020
				WO	2017053748	A2	30 March 2017
				US	2017088613	A1	30 March 2017
				US	2018186875	A1	05 July 2018
				AU	2016325610	A1	01 March 2018
				KR	20200087283	A	20 July 2020
				CA	2994858	A1	30 March 2017
				WO	2017053748	A3	11 May 2017
				JP	2018532397	A	08 November 2018
				RU	2020120073	A	03 July 2020
				RU	2732591	C2	21 September 2020
				RU	2018114523	A	25 October 2019
				EP	3353210	A2	01 August 2018
				AU	2019246814	A1	31 October 2019
				TW	201718644	A	01 June 2017
				PE	20181046	A1	03 July 2018
				US	10047158	B2	14 August 2018
CN	108368176	A	03 August 2018	WO	2017059095	A1	06 April 2017

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/070903

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		CO 2018004743 A2	30 November 2018
		AU 2016331052 A1	26 April 2018
		PH 12018500714 A1	15 October 2018
		JP 2018533371 A	15 November 2018
		RU 2729379 C1	06 August 2020
		AR 109625 A1	09 January 2019
		CA 3000404 A1	06 April 2017
		US 9713641 B2	25 July 2017
		MX 2018003898 A	17 December 2018
		BR 112018006531 A2	11 December 2018
		US 10507244 B2	17 December 2019
		IL 258394 D0	31 May 2018
		RU 2020124191 A	27 August 2020
		SG 10201912736U A	27 February 2020
		US 2017340735 A1	30 November 2017
		US 2020101158 A1	02 April 2020
		KR 20180068990 A	22 June 2018
		EP 3356413 A1	08 August 2018
		TW 201718636 A	01 June 2017
		HK 1253235 A1	14 June 2019
		US 2017165366 A1	15 June 2017

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2021/070903

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 16/28(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K; C12N; A61K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS; CNKI; CNTXT; DWPI; SIPOABS; EPTXT; USTXT; WOTXT; JPTXT; ISI Web of Science; CA和检索词: TIGIT, Ig, ITIM, T细胞免疫受体, T-cell immunoreceptor, immunoglobulin, immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif, 抗体, antibod+, 单结构域, 单域, sdAb, single domain, VHH等; 中国专利生物序列检索系统; Genbank; EMBL; STN和检索的序列: SEQ ID NOs:94-97等</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 110818795 A (上海复宏汉霖生物技术股份有限公司) 2020年 2月 21日 (2020 - 02 - 21) 权利要求1-18, 说明书第[0003]-[0031]段</td> <td>1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2019129221 A1 (NANJING CHUANQI BIOTECHNOLOGY CO LTD) 2019年 7月 4日 (2019 - 07 - 04) 参见全文</td> <td>1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 108137691 A (耶路撒冷希伯来大学伊萨姆研究发展有限公司等) 2018年 6月 8日 (2018 - 06 - 08) 参见全文</td> <td>1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 108290946 A (豪夫迈o罗氏有限公司) 2018年 7月 17日 (2018 - 07 - 17) 参见全文</td> <td>1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 108368176 A (波滕扎治疗公司) 2018年 8月 3日 (2018 - 08 - 03) 参见全文</td> <td>1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 110818795 A (上海复宏汉霖生物技术股份有限公司) 2020年 2月 21日 (2020 - 02 - 21) 权利要求1-18, 说明书第[0003]-[0031]段	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)	A	WO 2019129221 A1 (NANJING CHUANQI BIOTECHNOLOGY CO LTD) 2019年 7月 4日 (2019 - 07 - 04) 参见全文	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)	A	CN 108137691 A (耶路撒冷希伯来大学伊萨姆研究发展有限公司等) 2018年 6月 8日 (2018 - 06 - 08) 参见全文	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)	A	CN 108290946 A (豪夫迈o罗氏有限公司) 2018年 7月 17日 (2018 - 07 - 17) 参见全文	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)	A	CN 108368176 A (波滕扎治疗公司) 2018年 8月 3日 (2018 - 08 - 03) 参见全文	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
PX	CN 110818795 A (上海复宏汉霖生物技术股份有限公司) 2020年 2月 21日 (2020 - 02 - 21) 权利要求1-18, 说明书第[0003]-[0031]段	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)																		
A	WO 2019129221 A1 (NANJING CHUANQI BIOTECHNOLOGY CO LTD) 2019年 7月 4日 (2019 - 07 - 04) 参见全文	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)																		
A	CN 108137691 A (耶路撒冷希伯来大学伊萨姆研究发展有限公司等) 2018年 6月 8日 (2018 - 06 - 08) 参见全文	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)																		
A	CN 108290946 A (豪夫迈o罗氏有限公司) 2018年 7月 17日 (2018 - 07 - 17) 参见全文	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)																		
A	CN 108368176 A (波滕扎治疗公司) 2018年 8月 3日 (2018 - 08 - 03) 参见全文	1-9 (部分)、10、35 (部分)、36、64-107 (部分)																		
国际检索实际完成的日期	2021年 3月 26日	国际检索报告邮寄日期	2021年 4月 9日																	
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	授权官员	何睿 电话号码 (86-10)-62411106																	

第I栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a. 作为国际申请的一部分提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式
 - 纸件或图形文件形式
- b. 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:
- c. 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式 (细则13之三. 1(a))
 - 纸件或图形文件形式 (细则13之三. 1(b) 和行政法规第713段)
2. 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围 (如适用) 的所需声明。
3. 补充意见:

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 93-100
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] PCT细则39.1(iv)——处置人体或者动物体的治疗方法。为了便于检索和出具书面意见，将权利要求93预期为“如权利要求1至84中任一项所述的抗体、如权利要求85至87中任一项所述的免疫缀合物或如权利要求88所述的药物组合物在制备用于减轻受试者的肿瘤负荷的药物中的应用”。将权利要求98预期为“如权利要求1至84中任一项所述的抗体、如权利要求85至87中任一项所述的免疫缀合物或如权利要求88所述的药物组合物在制备用于治疗 and/或预防赘生物的药物中的应用”。将权利要求99预期为“如权利要求1至84中任一项所述的抗体、如权利要求85至87中任一项所述的免疫缀合物或如权利要求88所述的药物组合物在制备用于延长患有赘生物的受试者的存活期的药物中的应用”。相应的将权利要求94-97、100的主题名称预期为“应用”。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

- [1] 第1项发明：权利要求1-9（部分）、10、35（部分）、36、64-107（部分），涉及重链可变区CDR1包含具有SEQ ID NO:94所示序列的氨基酸、重链可变区CDR2包含具有SEQ ID NO:95所示序列的氨基酸、重链可变区CDR3包含具有SEQ ID NO:96所示序列的氨基酸的抗体，及其相应的免疫缀合物、药物组合物、核酸、载体、宿主细胞、制备方法、试剂盒及医药用途。
- [2] 第2项发明：权利要求1-9（部分）、11、35（部分）、37、64-107（部分），涉及重链可变区CDR1包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸、重链可变区CDR2包含具有SEQ ID NO:99所示序列的氨基酸、重链可变区CDR3包含具有SEQ ID NO:100所示序列的氨基酸的抗体，及其相应的免疫缀合物、药物组合物、核酸、载体、宿主细胞、制备方法、试剂盒及医药用途。
- [3] ……
- [4] 第25项发明：权利要求1-9（部分）、34、35（部分）、60、64-107（部分），涉及重链可变区CDR1包含具有SEQ ID NO:190所示序列的氨基酸、重链可变区CDR2包含具有SEQ ID NO:191所示序列的氨基酸、重链可变区CDR3包含具有SEQ ID NO:192所示序列的氨基酸的抗体，及其相应的免疫缀合物、药物组合物、核酸、载体、宿主细胞、制备方法、试剂盒及医药用途。
- [5] 第26-46项发明：权利要求1-6（部分）、61-107（部分），分别涉及重链可变区CDR1包含具有SEQ ID NO:1、5、……81之一所示序列的氨基酸、重链可变区CDR2包含具有SEQ ID NO:2、6、……82之一所示序列的氨基酸、重链可变区CDR3包含具有SEQ ID NO:3、7、……83之一所示序列的氨基酸的抗体，及其相应的免疫缀合物、药物组合物、核酸、载体、宿主细胞、制备方法、试剂盒及医药用途。
- [6] 上述46项发明具有的相同或相应的技术特征是所述抗体均为与TIGIT结合的单结构域抗体。但是与TIGIT结合的单结构域抗体已被现有技术（参见WO 2019129221 A1，公开日：04.7月2019（04.07.2019））公开，且公开的抗体中与人TIGIT结合的KD值可以达到 $1.2E-10M$ 。因此，上述46项发明不具有相同或相应的体现发明对现有技术作出贡献的特定技术特征，不属于一个总的发明构思，因而不满足发明单一性的要求，不符合《PCT实施细则》13.1的规定。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：
4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是： 权利要求1-9（部分）、10、35（部分）、36、64-107（部分）

对异议的意见

- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/070903

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	110818795	A	2020年 2月 21日	CN	110818795	B	2020年 4月 24日
WO	2019129221	A1	2019年 7月 4日	IL	275575	D0	2020年 8月 31日
				TW	201930358	A	2019年 8月 1日
				CA	3082280	A1	2019年 7月 4日
				SG	11202004158Q	A	2020年 6月 29日
				AU	2018396970	A1	2020年 8月 13日
				EP	3732202	A1	2020年 11月 4日
				CN	111699198	A	2020年 9月 22日
				KR	20200104333	A	2020年 9月 3日
CN	108137691	A	2018年 6月 8日	JP	2018532383	A	2018年 11月 8日
				US	2018185480	A1	2018年 7月 5日
				EP	3344658	A1	2018年 7月 11日
				WO	2017037707	A1	2017年 3月 9日
				CA	2997130	A1	2017年 3月 9日
CN	108290946	A	2018年 7月 17日	JP	2020074778	A	2020年 5月 21日
				IL	257636	D0	2018年 4月 30日
				HK	1258058	A1	2019年 11月 1日
				RU	2018114523	A3	2019年 10月 25日
				NZ	739750	A	2019年 11月 29日
				BR	112018005862	A2	2018年 10月 16日
				CO	2018004090	A2	2018年 11月 30日
				KR	20180053742	A	2018年 5月 23日
				AU	2016325610	B2	2019年 10月 10日
				MX	2018003633	A	2018年 8月 1日
				US	10017572	B2	2018年 7月 10日
				US	2019119376	A1	2019年 4月 25日
				JP	6764474	B2	2020年 9月 30日
				SG	10202007764T	A	2020年 9月 29日
				CR	20180225	A	2018年 7月 9日
				ZA	201800941	B	2019年 5月 29日
				PH	12018500608	A1	2018年 10月 1日
				CL	2018000744	A1	2018年 7月 6日
				CL	2020000938	A1	2020年 8月 14日
				WO	2017053748	A2	2017年 3月 30日
				US	2017088613	A1	2017年 3月 30日
				US	2018186875	A1	2018年 7月 5日
				AU	2016325610	A1	2018年 3月 1日
				KR	20200087283	A	2020年 7月 20日
				CA	2994858	A1	2017年 3月 30日
				WO	2017053748	A3	2017年 5月 11日
				JP	2018532397	A	2018年 11月 8日
				RU	2020120073	A	2020年 7月 3日
				RU	2732591	C2	2020年 9月 21日
				RU	2018114523	A	2019年 10月 25日
				EP	3353210	A2	2018年 8月 1日
				AU	2019246814	A1	2019年 10月 31日
				TW	201718644	A	2017年 6月 1日
				PE	20181046	A1	2018年 7月 3日
				US	10047158	B2	2018年 8月 14日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/070903

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	108368176	A	2018年 8月 3日	WO	2017059095	A1	2017年 4月 6日
				CO	2018004743	A2	2018年 11月 30日
				AU	2016331052	A1	2018年 4月 26日
				PH	12018500714	A1	2018年 10月 15日
				JP	2018533371	A	2018年 11月 15日
				RU	2729379	C1	2020年 8月 6日
				AR	109625	A1	2019年 1月 9日
				CA	3000404	A1	2017年 4月 6日
				US	9713641	B2	2017年 7月 25日
				MX	2018003898	A	2018年 12月 17日
				BR	112018006531	A2	2018年 12月 11日
				US	10507244	B2	2019年 12月 17日
				IL	258394	D0	2018年 5月 31日
				RU	2020124191	A	2020年 8月 27日
				SG	10201912736U	A	2020年 2月 27日
				US	2017340735	A1	2017年 11月 30日
				US	2020101158	A1	2020年 4月 2日
				KR	20180068990	A	2018年 6月 22日
				EP	3356413	A1	2018年 8月 8日
				TW	201718636	A	2017年 6月 1日
				HK	1253235	A1	2019年 6月 14日
				US	2017165366	A1	2017年 6月 15日