



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118871470 A

(43) 申请公布日 2024. 10. 29

(21) 申请号 202380027139.2

(22) 申请日 2023.02.10

(30) 优先权数据

63/308,800 2022.02.10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/012836 2023.02.10

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/154482 EN 2023.08.17

(71) 申请人 NEXTPPOINT治疗公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 B·埃特马德-吉尔博特逊

M·罗施

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

专利代理师 黄遵玲 张璐

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

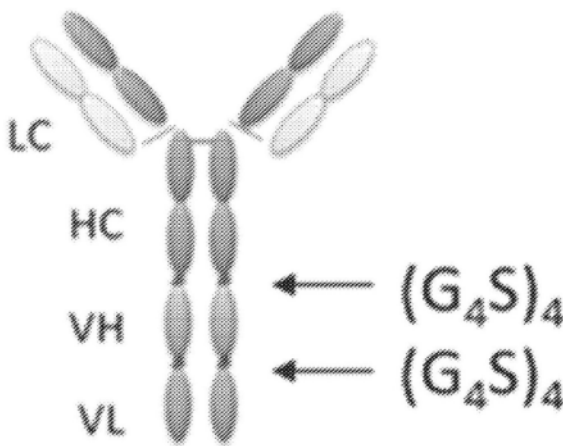
权利要求书2页 说明书81页 附图4页

(54) 发明名称

T细胞和NK细胞接合物

(57) 摘要

本公开涉及T细胞和/或NK细胞接合剂及其用途。在一些实施方案中,本公开提供了双特异性抗体分子或其抗原结合片段,该双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含(i)第一抗原结合结构域,其选择性结合至含有跨膜和免疫球蛋白结构域的蛋白质2(TMIGD2);以及(ii)第二抗原结合结构域,其选择性结合至至少一种肿瘤相关抗原(TAA)。本文公开的此类剂(例如,双特异性抗体分子或其抗原结合片段)可以用于治疗患有疾病、病症或疾患的受试者和/或调节受试者的免疫反应的方法中。



1. 一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其包含:
 - (i) 第一抗原结合结构域,其选择性结合至含有跨膜和免疫球蛋白结构域的蛋白质2 (TMIGD2),以及
 - (ii) 第二抗原结合结构域,其选择性结合至至少一种肿瘤相关抗原 (TAA)。
2. 如权利要求1所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域活化免疫效应细胞。
3. 如权利要求1或权利要求2所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域将免疫效应细胞募集至肿瘤微环境。
4. 如权利要求2或权利要求3所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述免疫效应细胞包括或为T细胞和/或NK细胞。
5. 如权利要求1至4中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述至少一种TAA包括或为HLA2、CD123、B7-H3、B7-H4、CD33、CD30、HER2、CD22、CD79b、结合素-4、Trop-2、BCMA、CD19、叶酸受体 α 、EGFR或它们的组合。
6. 如权利要求1至5中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包括或为抗体或其抗原结合片段。
7. 如权利要求1至6中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述第二抗原结合结构域包括或为抗体或其抗原结合片段。
8. 如权利要求6或权利要求7所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段包括或为scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂、纳米抗体或骆驼科动物抗体。
9. 如权利要求6至8中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段为或包括:
 - (i) 嵌合、人或人源化抗体分子或其抗原结合片段;以及/或者
 - (ii) 单克隆抗体分子或其抗原结合片段。
10. 如权利要求6至9中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段为或包括:
 - (i) 重链恒定区,其选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4,以及/或者
 - (ii) 轻链恒定区,其选自 κ 或 λ 的轻链恒定区。
11. 如权利要求6至9中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段包含相对于参考抗体或其抗原结合片段具有降低的效应功能的Fc区。
12. 如权利要求11所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述Fc区包含根据EU索引编号的L234A和/或L235A的一个或多个氨基酸取代。
13. 如前述权利要求中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述第一抗原结合结构域包括或为scFv,并且所述第二抗原结合结构域包括或为抗体分子。
14. 如权利要求13所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段,其中所述scFv和所述抗体分子通过肽接头共价连接。
15. 一种药物组合物,其包含权利要求1至14中任一项所述的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段,以及药学上可接受的载剂。
16. 一种治疗患有疾病、病症或疾患的受试者以及/或者调节受试者的免疫反应的方法,其包括施用治疗有效量的权利要求15所述的药物组合物。

17. 如权利要求15或权利要求16所述的方法,其中所述受试者患有癌症或有发展成癌症的风险。

18. 如权利要求17所述的方法,其中所述受试者患有实体瘤或血液癌症。

19. 如权利要求18所述的方法,其中所述实体瘤为或包括以下中的一者或多者:肾癌、骨癌、皮肤癌、乳腺癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、肺癌、卵巢癌、肝癌、胆管癌或甲状腺癌。

20. 如权利要求18所述的方法,其中所述血液癌症包括或为白血病或淋巴瘤。

21. 如权利要求20所述的方法,其中所述白血病包括或为急性淋巴细胞性白血病、急性髓系白血病、慢性髓系白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性白血病或急性白血病。

22. 如权利要求20所述的方法,其中所述淋巴瘤包括或为霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤、淋巴细胞性淋巴瘤或弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。

23. 如权利要求16至22中任一项所述的方法,其中所述双特异性抗体分子或其抗原结合片段与至少一种附加剂组合施用。

24. 一种核酸分子,其编码权利要求1至14中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段。

25. 一种表达载体,其包含权利要求24所述的核酸分子。

26. 一种宿主细胞,其包含或表达权利要求1至14中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段、权利要求24所述的核酸分子,或者权利要求25所述的表达载体。

27. 一种制备双特异性抗体分子或其抗原结合片段的方法,其包括:

(i) 在适合于表达所述双特异性抗体分子或其抗原结合片段的条件下培养包含权利要求24所述的核酸分子或权利要求25所述的表达载体的宿主细胞,以及

(ii) 回收所述双特异性抗体分子或其抗原结合片段。

28. 一种检测样品中TMIGD2多肽和/或TAA的存在或水平的方法,其包括使用权利要求1至14中任一项所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段来检测所述样品中的所述TMIGD2多肽和/或所述TAA。

29. 一种试剂盒,其包括权利要求1至14中任一项所述的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段,以及使用说明书。

T细胞和NK细胞接合物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2022年2月10日提交的美国临时专利申请63/308,800的优先权,该临时专利申请的内容以引用的方式整体并入本文。

背景技术

[0003] 尽管对包括癌症在内的许多疾病和病症进行了免疫疗法的研究,但仍遇到了仍需解决的功能限制。共刺激和共抑制配体和受体的网络严格控制免疫系统。免疫检查点基于复杂的相互作用对免疫反应进展进行负向调控。目前可用的免疫疗法可以调节一些患者的免疫反应,但是免疫检查点的表达和与天然结合配偶体的相互作用在患者之间可能存在差异。

[0004] 因此,需要开发被优化成靶向肿瘤部位(尤其是在肿瘤微环境中)的新的改进的治疗方式(modalities)。

发明内容

[0005] 除其他外,本公开提供了与特定靶标相互作用的双特异性抗体分子或其抗原结合片段以及使用此类双特异性抗体分子或其抗原结合片段的方法。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含选择性结合至含有跨膜和免疫球蛋白结构域的蛋白质2(transmembrane and immunoglobulin domain containing 2, TMIGD2)的第一抗原结合结构域。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含选择性结合至至少一种肿瘤相关抗原(TAA)的第二抗原结合结构域。HERV-H LTR-相关蛋白质2(HHLA2)是示例性TAA,其是在多种肿瘤和抗原呈递细胞中广泛表达的B7基因家族成员。HHLA2与抑制性和刺激性受体相互作用从而调控T细胞和NK细胞功能。TMIGD2是在T细胞和NK细胞上表达的HHLA2的活化性受体,该受体与HHLA2相互作用从而共刺激T细胞和NK细胞活化。

[0006] 虽然已将各种TAA结合剂作为免疫疗法进行了研究,但是本公开特别涵盖具有新活性的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的发现,该双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以选择性结合至在癌细胞上表达的至少一种TAA,并且选择性结合至在免疫效应细胞(尤其是T细胞(例如,初始T细胞和/或效应T细胞)和/或NK细胞)上表达的TMIGD2。将此种针对肿瘤的方法组合来增加患者的免疫调节可以提供用于在肿瘤部位处,尤其是在肿瘤微环境(TME)中产生和形成免疫反应的有效策略。本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以活化先天免疫系统和适应性免疫系统两者。因此,本公开提供了特别可用于治疗包括实体瘤或血液肿瘤在内的多种癌症,以及调节受试者中的免疫反应的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的若干实例。

[0007] 在一个方面,本公开提供了双特异性抗体分子或其抗原结合片段,该双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含:(i)第一抗原结合结构域,其选择性结合至TMIGD2;以及(ii)第二抗原结合结构域,其选择性结合至至少一种TAA。在一些实施方案中,第一抗原结

合结构域活化免疫效应细胞。在一些实施方案中,第一抗原结合结构域将免疫效应细胞募集至肿瘤微环境。在一些实施方案中,免疫效应细胞包括或为T细胞(例如,初始T细胞和/或效应T细胞)和/或NK细胞。在一些实施方案中,至少一种TAA包括或为HHLA2、CD123、B7-H3、B7-H4、CD33、CD30、HER2、CD22、CD79b、结合素-4、Trop-2、BCMA、CD19、叶酸受体 α 、EGFR或它们的组合。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为HHLA2。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为CD123。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为B7-H3。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为B7-H4。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为CD33。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为CD30。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为HER2。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为CD22。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为CD79b。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为结合素-4。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为Trop-2。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为BCMA。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为CD19。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为叶酸受体 α 。在某些实施方案中,至少一种TAA包括或为EGFR。

[0008] 在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包括或为抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,第二抗原结合结构域包括或为抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗原结合片段包括或为scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂、纳米抗体或骆驼科动物抗体。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段为或包括:(i)嵌合、人或人源化抗体或其抗原结合片段;以及/或者(iii)单克隆抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段为或包含:(i)重链恒定区,其选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4;以及/或者(ii)轻链恒定区,其选自 κ 或 λ 的轻链恒定区。

[0009] 在一些实施方案中,抗体或抗原结合片段包含具有降低的效应功能的Fc区。在一些实施方案中,Fc区包含根据EU索引编号的L234A和/或L235A的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中,修饰包括根据EU索引编号的N297A。在一些实施方案中,第一抗原结合结构域包括或为scFv,并且第二抗原结合结构域包括或为抗体。在一些实施方案中,scFv和抗体通过肽接头共价连接。在一些实施方案中,肽接头的长度大于至少五个氨基酸。

[0010] 在另一个方面,本公开提供了药物组合物,其包含本文所述的任何方面或实施方案的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段,以及药学上可接受的载剂。

[0011] 在另一个方面,本公开提供了治疗患有疾病、病症或疾患的受试者的方法,其包括施用治疗有效量的本文所述的任何方面或实施方案的药物组合物。在另一个方面,本公开提供了调节受试者中的免疫反应的方法,其包括施用治疗有效量的本文所述的任何方面或实施方案的药物组合物。

[0012] 在一些实施方案中,受试者患有癌症或有发展成癌症的风险。在一些实施方案中,受试者患有实体瘤或血液癌症。在一些实施方案中,实体瘤为或包括以下中的一者或多者:肾癌、骨癌、皮肤癌、乳腺癌、宫颈癌、结直肠癌、子宫内膜癌、肺癌、卵巢癌、肝癌、胆管癌或甲状腺癌。在一些实施方案中,血液癌症包括或为白血病或淋巴瘤。在一些实施方案中,白血病包括或为急性淋巴细胞性白血病、急性髓系白血病、慢性髓系白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性白血病或急性白血病。在一些实施方案中,淋巴瘤包括或为霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤、淋巴细胞性淋巴瘤或弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。

[0013] 在一些实施方案中,将本文所述的任何方面或实施方案的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段与至少一种附加剂组合施用。

[0014] 在另一个方面,本公开提供了编码本文所述的任何方面或实施方案的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段的核酸分子(例如,表1-5中的一种或多种核酸分子)。

[0015] 在另一个方面,本公开提供了包含本文所述的任何方面或实施方案的核酸分子的表达载体。

[0016] 在另一个方面,本公开提供了包含或表达本文所述的任何方面或实施方案的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段、本文所述的任何方面或实施方案的核酸分子,或者本文所述的任何方面或实施方案的表达载体的宿主细胞。

[0017] 在另一个方面,本公开提供了制备至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段的方法,其包括:(i)在适合于表达至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段的条件下培养包含本文所述的任何方面或实施方案的核酸分子或本文所述的任何方面或实施方案的表达载体的宿主细胞,以及(ii)回收至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段。

[0018] 在另一个方面,本公开提供了检测样品中TMIGD2多肽和/或TAA的存在或水平的方法,其包括使用本文所述的任何方面或实施方案的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段来检测样品中的TMIGD2多肽和/或TAA。

[0019] 在另一个方面,本公开提供了试剂盒,其包括本文所述的任何方面或实施方案的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段,以及使用说明书。

附图说明

[0020] 共同构成附图的下面所描述的图仅用于图示目的,而不是限制目的。

[0021] 图1是示出双特异性抗体分子的示例性格式(format)的示意图,该双特异性抗体分子使用衔接至靶向TAA的IgG抗体的重链的C-末端的靶向TMIGD2的scFv。scFv结构域内(V_H 结构域和 V_L 结构域之间)的接头以及scFv和Fc区之间的接头都为 $(G_4S)_4$ 重复序列。

[0022] 图2A-图2B是示出在TMIGD2- Jurkat NFAT报告细胞中,板结合的(图2A)和可溶性的(图2B)抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子(TankeC4S2)、抗TMIGD2 IgG4(Amp4.5)或人IgG4同种型对照的T细胞活化相对于单独的抗CD3刺激的倍数变化的图表。

[0023] 图3是示出在存在表达TAA(CD20)的Raji靶细胞的情况下,在NFAT TMIGD2- jurkat报告基因测定中,抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子(Tanke)与抗CD3或人IgG4同种型对照的T细胞活化相对于单独的抗CD3刺激的倍数变化的图表。

[0024] 图4是示出在存在表达TAA(CD20)的Raji靶细胞的情况下,在NFAT TMIGD2- jurkat报告基因测定中,抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子(TK20-17C7-01和TK20-39C9-2134)与抗CD3或抗CD20(IgG1 LALA)对照的T细胞活化相对于单独的抗CD3刺激的倍数变化的图表。

[0025] 定义

[0026] 为了更易于理解本公开,下面首先定义某些术语。在整个说明书中阐述了以下术语和其他术语的附加定义。本文引用的用于描述本公开的背景并提供关于其实践的附加细节的出版物和其他参考材料特此以引用的方式整体并入。

[0027] 在本申请中,除非上下文另有明确说明,否则(i)术语“一”可理解为意指“至少一

个/种”; (ii) 术语“或”可理解为意指“和/或”; (iii) 术语“包含”和“包括”可理解为涵盖逐项列出的组分或步骤, 无论它们是单独呈现还是与一个或多个附加组分或步骤一起呈现; 以及 (iv) 在提供范围的情况下, 包括端点。

[0028] 约: 如本文所用, 如应用于一个或多个所关注的值的术语“约”是指类似于所陈述的参考值的值。在一些实施方案中, 术语“约”是指落在所陈述的参考值的任一方向 (大于或小于所陈述的参考值) 的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小内的值范围, 除非另有说明或根据上下文清楚看出 (除了此类数字将超过可能值的100%的情况)。

[0029] 亲和力成熟: 如本文所用, 术语“亲和力成熟”是指在其一个或多个CDR中具有一个或多个改变的抗体分子, 该一个或多个改变导致抗体分子对抗原的亲和力与不具有这一个或多个改变的亲本抗体分子相比得到改善。在一些实施方案中, 亲和力成熟的抗体分子对靶抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔的亲和力。亲和力成熟的抗体分子可以通过本领域已知的多种程序中的任一种产生。Marks等人, *BioTechnology* 10: 779-783 (1992) 描述了由V_H和V_L结构域改组引起的亲和力成熟。CDR和/或框架残基的随机诱变描述于以下文献中: Barbas等人, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A* 91: 3809-3813 (1994); Schier等人, *Gene* 169: 147-155 (1995); Yelton等人, *J. Immunol.* 155: 1994-2004 (1995); Jackson等人, *J. Immunol.* 154 (7): 3310-9 (1995); 以及Hawkins等人, *J. Mol. Biol.* 226: 889-896 (1992)。

[0030] 剂: 如本文所用, 术语“剂”是指治疗形式, 例如, 生物、化学或其他治疗。例如, 生物制剂可以为或包括生物实体和/或化合物, 包括例如抗体分子或其抗原结合片段, 有机分子 (例如, 小分子), 肽 (例如, 融合蛋白质), 适体, 核酸, 嵌合抗原受体, 糖蛋白质, 糖, 脂质, 生长因子, 酶, 合成分子, 碳水化合物, 脂质, 激素, 聚合物或者它们的衍生物、变型、复合物或任何组合。在适当的情况下, 如本领域技术人员从上下文中将清楚, 该术语可用于指为或包括细胞或生物体或者它们的级分、提取物或组分的实体。可替代地或另外地, 如从上下文将清楚的, 该术语可用于指天然产物。在一些情况下, 同样如从上下文将清楚的, 该术语可用于指一个或多个人造实体, 因为它通过人的行动来设计、工程化和/或产生的, 并且/或者在自然界中未被发现。在一些实施方案中, 剂可以经分离形式或纯形式使用。在一些实施方案中, 剂可以粗制形式使用。在一些实施方案中, 剂作为集合或文库提供, 可对这些集合或文库进行筛选以鉴定或表征它们中的活性剂。剂可结合任何细胞部分, 诸如受体、抗原决定簇或者存在于靶标或靶细胞上的其他结合位点。各种剂可用于本文所述的组合物和方法中。

[0031] 例如, 剂可以为或包括以下中的一者或多者: 化学治疗剂、激素疗法、基于细胞的治疗、用热疗治疗、光动力疗法、手术、放射或移植。在一些实施方案中, 化学治疗剂包括或为一种或多种蒽环类药物、一种或多种细胞骨架破坏剂 (例如微管靶向剂, 诸如紫杉烷、美登素以及它们的类似物)、一种或多种埃博霉素、一种或多种组蛋白脱乙酰基酶抑制剂 (HDAC)、一种或多种拓扑异构酶抑制剂 (例如, 拓扑异构酶I或拓扑异构酶II抑制剂中的一种或多种)、一种或多种激酶抑制剂、一种或多种核苷酸类似物或核苷酸前体类似物、一种或多种肽抗生素、一种或多种基于铂的剂、一种或多种类视黄醇、一种或多种长春花生物碱或者它们的组合。在一些实施方案中, 化学治疗剂包括或为以下中的一者或多者: 放线菌素 (Actinomycin)、全反式视黄酸、奥瑞斯他汀 (Auristatin)、阿扎胞苷 (Azacitidine)、硫唑

嘌呤 (Azathioprine)、博来霉素 (Bleomycin)、硼替佐米 (Bortezomib)、卡铂 (Carboplatin)、卡培他滨 (Capecitabine)、顺铂 (Cisplatin)、苯丁酸氮芥 (Chlorambucil)、环磷酰胺 (Cyclophosphamide)、姜黄素 (Curcumin)、阿糖胞苷 (Cytarabine)、道诺霉素 (Daunorubicin)、多西他赛 (Docetaxel)、脱氧氟尿苷 (Doxifluridine)、多柔比星 (Doxorubicin)、表柔比星 (Epirubicin)、埃博霉素 (Epothilone)、依托泊苷 (Etoposide)、氟达拉滨 (Fludarabine)、氟尿嘧啶 (Fluorouracil)、吉西他滨 (Gemcitabine)、羟基脲 (Hydroxyurea)、伊达比星 (Idarubicin)、伊马替尼 (Imatinib)、伊立替康 (Irinotecan)、美登素 (Maytansine) 和/或它们的类似物 (例如, DM1)、双氯乙基甲胺 (Mechlorethamine)、巯基嘌呤 (Mercaptopurine)、氨甲蝶呤 (Methotrexate)、米托蒽醌 (Mitoxantrone)、美登木素 (Maytansinoid)、奥沙利铂 (Oxaliplatin)、紫杉醇 (Paclitaxel)、培美曲塞 (Pemetrexed)、美罗华 (Rituxan)、替尼泊苷 (Teniposide)、硫鸟嘌呤 (Tioguanine)、托泊替康 (Topotecan)、戊柔比星 (Valrubicin)、长春花碱 (Vinblastine)、长春新碱 (Vincristine)、长春地辛 (Vindesine) 或长春瑞滨 (Vinorelbine)。在一些实施方案中, 化学治疗剂包括或为抗体-药物缀合物 (ADC)。在一些实施方案中, ADC 包括或为 hLL1-多柔比星、hRS7-SN-38、hMN-14-SN-38、hLL2-SN-38、hA20-SN-38、hPAM4-SN-38、hLL1-SN-38、hRS7-Pro-2-P-Dox、hMN-14-Pro-2-P-Dox、hLL2-Pro-2-P-Dox、hA20-Pro-2-P-Dox、hPAM4-Pro-2-P-Dox、hLL1-Pro-2-P-Dox、P4/D10-多柔比星、吉妥珠单抗奥唑米星 (gemtuzumab ozogamicin)、本妥昔单抗维汀 (brentuximab vedotin)、曲妥珠单抗美坦新 (trastuzumab emtansine)、英妥珠单抗奥唑米星 (inotuzumab ozogamicin)、格巴妥莫单抗维多汀 (glembatumomab vedotin)、SAR3419、SAR566658、BIIB015、BT062、SGN-75、SGN-CD19A、AMG-172、AMG-595、BAY-94-9343、ASG-5ME、ASG-22ME、ASG-16M8F、MDX-1203、MLN-0264、抗PSMA ADC、RG-7450、RG-7458、RG-7593、RG-7596、RG-7598、RG-7599、RG-7600、RG-7636、ABT-414、IMGN-853、IMGN-529、伏司妥珠单抗马佛多汀 (vorsetuzumab mafodotin)、罗佛珠单抗米他汀 (lorvotuzumab mertansine) 或者它们的组合。

[0032] 在一些实施方案中, 激素疗法可以为或包括他莫昔芬 (tamoxifen)、雷洛昔芬 (raloxifene)、亮丙瑞林 (leuprolide)、比卡鲁胺 (bicalutamide)、格拉司琼 (granisetron)、氟他胺 (flutamide) 或者它们的组合。在一些实施方案中, 基于细胞的疗法包括或为嵌合抗原受体T (CAR-T) 细胞、TCR转导的T细胞、树突细胞、肿瘤浸润性淋巴细胞 (TIL)、自然杀伤 (NK) 细胞或者它们的组合。在一些实施方案中, 用热疗治疗包括或为局部热疗 (例如, 外部、腔内或间质热疗)、区域热疗 (例如, 深部组织热疗、区域灌注或连续高温腹膜灌注) 或全身热疗。在一些实施方案中, 光动力疗法包括或为施用光敏剂, 诸如血卟啉及其衍生物、维替泊芬 (Verteporfin) (BPD-MA)、酞菁、光敏剂Pc4、脱甲氧基竹红菌素A、2BA-2-DMHA 或者它们的组合。在一些实施方案中, 手术包括或为用于去除癌性组织或癌前组织的手术。在一些实施方案中, 移植包括或为干细胞移植或器官移植。

[0033] 抗体分子: 如本文所用, 术语“抗体分子”是指多肽, 例如, 免疫球蛋白链或其片段, 包括足以赋予与特定靶标 (例如, 抗原) 的特异性结合的规范免疫球蛋白序列元件。术语“抗体分子”涵盖抗体和抗体片段。如本领域已知的, 如在自然界中产生的完整抗体是大约 150kD 的四聚体剂, 该四聚体剂包含两个同一的重链多肽 (每个约 50kD) 和两个同一的轻链

多肽(每个约25kD),这些多肽彼此缔合形成通常称为“Y形”结构的结构。每条重链包含至少四个结构域(每个结构域的长度为约110个氨基酸):氨基末端可变(V_H)结构域,随后是三个恒定结构域:CH1、CH2和羧基末端CH3(定位于Y的茎部的基部)。称为“转换区”的短区域连接重链可变区和恒定区。“铰链”区将CH2结构域和CH3结构域连接至CH1结构域。此铰链区中的两个二硫键将完整抗体分子中的两个重链多肽彼此连接。每条轻链包含两个结构域:氨基末端可变(V_L)结构域,随后是羧基末端恒定(CL)结构域,这两个结构域被另一个“转换区”区域彼此隔开。天然产生的抗体通常在CH2结构域上被糖基化。抗体中的每个结构域具有以“免疫球蛋白折叠”为特征的结构,该“免疫球蛋白折叠”由在压缩的反平行 β 桶中彼此堆积的两个 β 褶皱板(例如,3链褶皱板、4链褶皱板或5链褶皱板)形成。每个可变结构域含有三个称为“互补决定区”(CDR1、CDR2和CDR3)的高变环以及四个稍微不变的“框架”区(FR1、FR2、FR3和FR4)。当天然抗体折叠时,FR区形成提供结构域的结构框架的 β 褶皱板,并且来自重链和轻链两者的CDR环区都在三维空间中聚集在一起,以产生定位于Y结构的端部的单个高变抗原结合位点。天然存在的抗体的Fc区结合至效应细胞上的受体,该效应细胞包括例如介导细胞毒性的效应细胞。Fc区对Fc受体的亲和力和/或其他结合属性可以通过糖基化或其他修饰来调节。

[0034] 在一些实施方案中,包含足够的免疫球蛋白结构域序列的任何多肽或多肽复合物都可以被称为和/或用作“抗体分子”,无论此种多肽是天然产生的(例如,由对抗原产生反应的生物体产生),还是通过重组工程、化学合成或其他人工系统或方法产生的。在一些实施方案中,抗体分子是单克隆的。在一些实施方案中,抗体分子是多克隆的。在一些实施方案中,抗体分子具有小鼠、兔、灵长类动物或人抗体所特有的恒定区序列。在一些实施方案中,一个或多个抗体分子序列是人源化的、灵长类动物源化的或嵌合的,如本领域所知。此外,术语“抗体分子”可以指本领域已知或开发的用于利用抗体结构和功能特征的构建体或格式中的任一种。例如,抗体分子可以呈选自但不限于以下的格式:完整的IgA、IgG、IgE或IgM抗体,包括亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4);多特异性(例如,双特异性)抗体;以及/或者抗体片段(优选地抗原结合抗体片段)。抗体分子可以是免疫球蛋白、重链抗体、轻链抗体、基于富含亮氨酸重复序列(LRR)的抗体或具有抗体样性质的其他蛋白质支架。抗体分子可以是本领域已知的任何免疫结合部分,包括但不限于scFv、Fab、Fab'、Fab'₂、Fab₂、Fab₃、F(ab')₂、Fd、Fd'、Fv、Feb、双价抗体、三价抗体、四价抗体、微抗体(minibody)、大抗体(maxibody)、tandab、DVD、BiTe、TandAb、单结构域抗体(例如,鲨鱼单结构域抗体,诸如IgNAR或其片段)、骆驼科动物抗体、经掩蔽抗体(例如, **Probodyes®**)、小模块免疫药物(SMIP™)、单链或串联双价抗体(**TandAb®**)、VHH、Anticalin®、Nanobody®、BiTE®、锚蛋白重复蛋白质或 **DARPIN®**、Avimer®、DART、TCR-like antibody、Adnectin®、Affilin®、Trans-body®、Affibody®、TrimerX®、MicroProtein、Fynomer®、Centyrin®、KALBITOR®或者它们的任何组合。

[0035] 在一些实施方案中,“抗体分子”为或包括多肽,该多肽包含被本领域的技术人员识别为CDR的一个或多个结构元件。在一些实施方案中,抗体分子为或包括多肽,该多肽包含与参考抗体中发现的CDR基本上同一的至少一个CDR(例如,至少一个 V_H CDR和/或至少一个 V_L CDR)。在一些实施方案中,与参考CDR基本上同一的CDR与参考CDR是同一的或者与参考CDR相比含有1-5个氨基酸取代。在一些实施方案中,CDR与参考CDR是基本上同一的,与参

考CDR的序列同一性为至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在一些实施方案中,CDR与参考CDR是基本上同一的,因为与参考CDR相比,至少一个氨基酸(例如,1-5个氨基酸)被删除、添加或取代,但是该CDR具有在其他方面与参考CDR同一的氨基酸序列。

[0036] 抗体重链:如本文所用,术语“抗体重链”是指以其天然存在的构象存在于抗体分子中的两种类型多肽链中的较大者。

[0037] 抗体轻链:如本文所用,术语“抗体轻链”是指以其天然存在的构象存在于抗体分子中的两种类型多肽链中的较小者。

[0038] 抗原:如本文所用,术语“抗原”或“Ag”是指能够激发免疫反应的分子。这种免疫反应可以涉及抗体产生、特定的有免疫能力的细胞的活化或它们两者。技术人员将理解,包括几乎所有蛋白质或肽在内的任何大分子都可以用作抗原。此外,抗原可以来源于重组或基因组DNA。技术人员将理解,包含编码引发免疫反应的蛋白质的核苷酸序列或部分核苷酸序列的任何DNA均编码本文所使用的术语“抗原”。此外,本领域技术人员将理解,抗原不需要仅由基因的全长核苷酸序列编码。显而易见的是,本公开包括但不限于多于一个基因的部分核苷酸序列的使用,并且这些核苷酸序列以各种组合被布置成引发所期望的免疫反应。此外,技术人员将理解,抗原根本不需要由“基因”编码。显而易见的是,抗原可以合成生成或可以来源于生物样品。此种生物样品可以包括但不限于组织样品、肿瘤样品、细胞或生物流体。

[0039] 抗原结合片段:如本文所用,术语“抗原结合片段”是指完整抗体或其重组变体的一部分,该部分结合完整抗体所结合的靶标(例如,抗原)。抗原结合片段是指足以赋予抗体片段对特定靶标(例如,抗原)的识别和特异性结合的抗原结合结构域(例如,完整抗体的抗原决定可变区)。抗原结合片段包括特异性结合抗原从而形成复合物的任何天然存在的、酶促获得的、合成的或经基因工程化的多肽或糖蛋白质。示例性抗原结合片段包括但不限于Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂和Fv片段;单链抗体分子,诸如scFv、VHH或骆驼科动物单链抗体分子;单结构域抗体,诸如sdAb(V_L或V_H);线性抗体;或者多特异性抗体分子,其由抗体片段形成,该抗体片段诸如包含通过铰链区处的二硫桥连接的两个或更多个Fab片段的片段。抗原结合片段可以被掺入到单结构域抗体、大抗体、微抗体、纳米抗体、胞内抗体、双价抗体、三价抗体、四价抗体、v-NAR或双-scFv中(参见例如,Hollinger和Hudson,Nature Biotechnology 23:1126-1136,2005)。抗原结合片段可以被接枝到基于多肽(诸如纤连蛋白III型(Fn3))的支架中(参见,美国专利6,703,199,该专利描述了纤连蛋白多肽微抗体)。与完整抗体分子一样,抗原结合片段可以是单特异性的或多特异性的(例如,双特异性的)。多特异性抗原结合片段可以包含至少两个不同的可变结构域,这些可变结构域各自能够特异性结合至分开的抗原或同一抗原的不同表位。抗原结合片段可以通过任何方式产生。例如,抗原结合片段可以通过完整抗体或抗体剂的片段化来酶促或化学产生。可替代地,抗原结合片段可以重组产生。抗原结合片段可全部或部分通过合成产生。抗原结合片段可以具有至少约50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200个氨基酸或更长的长度。

[0040] 抗体依赖性细胞毒性:如本文所用,术语“抗体依赖性细胞毒性”或“ADCC”是指抗体分子所结合的靶细胞被免疫效应细胞杀死的现象。不希望受理论束缚,ADCC通常被理解

为涉及携带Fc受体 (FcR) 的效应细胞识别并随后杀死抗体包被的靶细胞 (例如, 在其表面上表达与抗体结合的特异性抗原的细胞)。介导ADCC的免疫效应细胞包括但不限于NK细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞。

[0041] 相关: 如本文所用, 如果一个事件或实体的存在、水平、程度、类型和/或形式与另一个事件或实体的存在、水平、程度、类型和/或形式相关联, 则这两个事件或实体是彼此“相关”。例如, 如果特定实体 (例如, 抗原、多肽、遗传标记、代谢物或微生物) 的存在、水平和/或形式与特定疾病、病症或疾患的发病率和/或易感性相关联 (例如, 在相关群体中), 则该特定实体被认为与该疾病、病症或疾患相关。

[0042] 结合: 如本文所用, 术语“结合”是指两个或更多个实体之间或之中的非共价缔合。“直接”结合涉及实体或部分之间的物理接触。间接结合涉及通过与一个或多个中间实体物理接触来实现的物理相互作用。两个或更多个实体之间的结合通常可以在多种情形中的任一种情形中评估, 该多种情形包括孤立地或在更复杂系统的背景下 (例如, 当与载剂实体共价缔合或以其他方式缔合时和/或在生物系统或细胞中) 研究相互作用的实体或部分的情形。

[0043] 双特异性抗体分子: 如本文所用, 术语“双特异性抗体分子”是指具有两种不同的结合特异性的抗体分子。通常, 双特异性结合分子包含至少两个抗原结合结构域, 这些抗原结合结构域中的每一个均特异性结合至不同的抗原或表位。多种不同结构的双特异性抗体分子是本领域已知的。在一些实施方案中, 每个抗原结合结构域包含含有至少一个 V_H 区和/或至少一个 V_L 区的抗体分子或其抗原结合片段。在一些实施方案中, V_H 区和/或 V_L 区来自特定单克隆抗体。在某些实施方案中, 双特异性抗体分子包含: (i) 第一抗原结合结构域, 其包括或为抗体片段 (例如, scFv、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、纳米抗体或骆驼科动物抗体); 以及 (ii) 第二抗原结合结构域, 其包括或为全长抗体分子。

[0044] 癌症: 如本文所用, 术语“癌症”、“恶性肿瘤”、“赘生物”、“肿瘤”和“癌”是指表现出相对异常的、不受控制的和/或自主的生长, 从而表现出以细胞增殖的控制显著丧失为特征的异常生长表型的细胞。癌细胞可以局部或通过血流和淋巴系统扩散至其他身体部位。在一些实施方案中, 肿瘤为或包括癌前 (例如, 良性)、恶性、转移前、转移性和/或非转移性的细胞。在一些实施方案中, 癌症为或包括实体瘤。在一些实施方案中, 癌症为或包括血液肿瘤。各种癌症的实例在本文中有所描述, 并且包括但不限于造血系统癌症 (例如, 白血病、淋巴瘤 (霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤)、骨髓瘤和骨髓增生性病症); 肉瘤; 黑素瘤; 腺瘤; 实体组织癌; 口腔、咽喉、喉和肺的鳞状细胞癌; 肝癌; 泌尿生殖道癌症 (例如, 前列腺癌、宫颈癌、膀胱癌、子宫癌和子宫内膜癌以及肾细胞癌); 骨癌; 胰腺癌; 皮肤癌; 皮肤或眼内黑素瘤; 内分泌系统、甲状腺或甲状旁腺的癌症; 头颈癌; 乳腺癌; 胃肠道癌症; 神经系统癌症; 良性病变, 诸如乳头状瘤; 或者它们的任何组合以及包括本文其他部分描述的癌症在内的若干其他类型。

[0045] 载剂: 如本文所用, 术语“载剂”是指与组合物一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂和/或媒介物。在一些示例性实施方案中, 载剂包括无菌液体, 诸如例如, 水和油, 包括石油、动物、植物或合成来源的油, 诸如例如, 花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等等。在一些实施方案中, 载剂为或包括一种或多种固体组分。

[0046] CDR: 如本文所用, 术语“互补决定区”或“CDR”是指赋予抗原特异性和结合亲和力

的抗体可变区内的氨基酸序列。例如,一般而言,每个重链可变区中有三个CDR(例如,HCDR1、HCDR2和HCDR3),并且每个轻链可变区中有三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。确切定义的CDR边界和长度取决于不同的分类和编号系统。本领域中已经建立了用于定义CDR边界的某些系统(例如,Kabat、IMGT、Chothia或它们的组合)。因此,CDR可以通过Kabat、Chothia、IMGT或本领域已知的任何其他边界定义来引用。例如,在Kabat和Chothia组合编号方案中,CDR对应于作为Kabat CDR、Chothia CDR或两者的一部分的氨基酸残基。虽然边界有所不同,但是这些系统中的每一个在构成可变序列内的“高变区”方面都有一定程度的重叠。根据这些系统的CDR定义可以在长度和边界区域上相对于邻近的框架区有所不同(参见例如,Kabat等人,载于“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版,U.S.Department of Health and Human Services,1992;Chothia等人(1987) J.Mol.Biol.196,901;和MacCallum等人,J.Mol.Biol.(1996)262,732)。本领域的技术人员理解这些系统之间和之中的差异,并且能够在理解和实践本文的权利要求和公开内容所需的程度上理解CDR边界。

[0047] 嵌合抗体:如本文所用,术语“嵌合抗体”是指这样的抗体分子,该抗体分子的氨基酸序列包含在第一物种中发现的 V_H 区和 V_L 区序列和在第二不同物种中发现的恒定区序列。在许多实施方案中,嵌合抗体包含连接至人恒定区的鼠 V_H 区和 V_L 区。在一些实施方案中,具有连接至非人恒定区(例如,小鼠恒定区)的人 V_H 区和 V_L 区的抗体称为“反向嵌合抗体”。

[0048] 组合物:如本文所用,术语“组合物”是指包含一个或多个指定组分的离散物理实体。一般而言,除非另外指明,否则组合物可以是任何形式,例如,气体、凝胶、液体或固体。

[0049] 包括:如本文所用,被本文描述为“包括”一个或多个指定要素或步骤的组合物或方法是开放式的,这意味着该一个或多个指定要素或步骤是必不可少的,但是可以在组合物或方法的范围内添加其他要素或步骤。被描述为“包括”一个或多个指定要素或步骤的任何组合物或方法还描述了相应的、更有限的“基本上由相同的指定要素或步骤组成”的组合物或方法,这意味着该组合物或方法包括指定的基本要素或步骤,并且还可以包括不会实质上影响该组合物或方法的一个或多个基本和新颖的特征的附加要素或步骤。被本文描述为“包括”一个或多个指定要素或步骤或者“基本上由一个或多个指定要素或步骤组成”的任何组合物或方法还描述了相应的、更有限的和封闭式的“由指定要素或步骤组成”的组合物或方法,以排除任何其他未指定要素或步骤。在本文公开的任何组合物或方法中,任何指定的基本要素或步骤的已知的或公开的等同物都可以替代该要素或步骤。

[0050] 组合疗法:如本文所用,术语“组合疗法”是指两种或更多种不同的治疗剂(例如,双特异性抗体分子或其抗原结合片段和至少一种附加剂)以重叠方案施用,以使得受试者同时暴露于两种剂的情况。当以组合疗法使用时,两种或更多种不同治疗剂可以同时或分开施用。这种组合施用可包括以同一剂型同时施用两种或多种治疗剂,以单独的剂型同时施用,以及分开施用。也就是说,两种或更多种治疗剂可以同一剂型一起配制并同时施用。可替代地,可以单独的制剂同时施用两种或更多种治疗剂。在另一个替代方案中,可以施用第一治疗剂,随后施用一种或多种附加治疗剂。在分开施用方案中,两种或更多种治疗剂可以间隔几分钟、间隔几小时、间隔几天或间隔几周施用。在一些实施方案中,两种或更多种治疗剂可以在间隔数小时(例如,小于约1小时、约2小时、约3小时、约4小时或约5小时)内施用。

[0051] 有效量:如本文所用,术语“有效量”是指足以预防或治疗个体中的疾病、病症或疾患(例如,癌症)的至少一种体征和/或症状的剂量。有效用于治疗或预防用途的量将取决于例如所治疗的疾病、病症或疾患的阶段和严重程度;患者的年龄、体重和一般健康状况;以及处方医师的判断。剂量的大小还将由所选的活性成分/治疗剂;施用方法;施用的时间排程和频率;可能伴随特定活性物质的施用的任何不良副作用的存在、性质和程度;以及所期望的生理效果决定。本领域技术人员将会理解,各种疾病、病症或疾患可能需要涉及多次施用的长期治疗。出于本公开的目的,所施用的治疗剂(例如,本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或其抗原结合片段)的量或剂量应足以在合理的时间范围内在受试者中产生治疗或预防反应(例如,降低或以其他方式减轻至少一种体征或症状的严重程度或持续时间)。例如,剂量应当足以在从施用时间起约2小时或更长时间,例如约12小时至约24小时或更长时间的时间段内检测、治疗或预防癌症。在一些实施方案中,时间段甚至更长。给药将由一种或多种特定治疗剂的功效和受试者(例如,人)的状况以及待治疗的受试者(例如,人)的体重决定。

[0052] 编码:如本文所用,术语“编码”是指多核苷酸(诸如基因、cDNA或mRNA)中的特定核苷酸序列用作用于合成生物过程中的其他聚合物和大分子的模板的固有特性,该其他聚合物和大分子具有限定的核苷酸序列(例如,rRNA、tRNA或mRNA)或限定的氨基酸序列以及由此产生的生物特性。因此,如果对应于某个基因的mRNA的转录和翻译在细胞或其他生物系统中产生蛋白质,则该基因编码该蛋白质。编码链(对应于mRNA序列并且通常提供于序列表中的核苷酸序列)和非编码链(用作基因或cDNA转录的模板)两者均可以称为编码该基因或cDNA的蛋白质或其他产物。

[0053] 表位:如本文所用,术语“表位”是指被免疫球蛋白(例如,抗体或受体)结合组分特异性识别的任何部分。在一些实施方案中,表位由抗原上的多个化学原子或基团组成。在一些实施方案中,当抗原采用相关的三维构象时,此类化学原子或基团是表面暴露的。在一些实施方案中,当抗原采用这样的构象时,此类化学原子或基团在空间上彼此物理接近。在一些实施方案中,当抗原采用替代构象(例如,线性化)时,至少一些此类化学原子或基团在物理上彼此分离。

[0054] 表达:如本文所用,术语核酸序列的“表达”是指从核酸序列(例如,编码本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或其抗原结合片段的核酸序列)产生任何基因产物。在一些实施方案中,基因产物可以是转录物。在一些实施方案中,基因产物可以是多肽。在一些实施方案中,核酸序列的表达涉及以下项中的一种或多种:(1)从DNA序列产生RNA模板(例如,通过转录);(2)RNA转录物的加工(例如,通过剪接、编辑、5'帽形成和/或3'末端形成);(3)将RNA翻译为多肽或蛋白质;以及/或者(4)多肽或蛋白质的翻译后修饰。

[0055] 片段:如本文所用,术语“片段”是指包括整个结构的离散部分但缺少在整个结构中发现的一个或多个部分的结构。在一些实施方案中,片段由此种离散部分组成。在一些实施方案中,片段包括或为在整个结构中发现的特征结构元件或部分。在一些实施方案中,片段(例如,本文所述的抗原结合片段)包括或为至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500个或更多个在整个抗体分子中发现的单体单元(例如,氨基酸)。在一些实施方

案中,片段(例如,本文所述的抗原结合片段)包含至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、25%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的在整个抗体分子中发现的单体单元(例如,残基)或者由该单体单元(例如,残基)组成。在一些实施方案中,核苷酸片段包含至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、25%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的在整个核苷酸中发现的单体单元(例如,残基)或者由该单体单元(例如,残基)组成。

[0056] 框架区:如本文所用,术语“框架区”或“FR”是指可变区减去CDR的序列。由于CDR序列可由不同的系统来确定,因此框架序列也会受到相应的不同解释。六个CDR将重链和轻链上的框架区划分为每条链上的四个子区(FR1、FR2、FR3和FR4),其中CDR1位于FR1与FR2之间,CDR2位于FR2与FR3之间,并且CDR3位于FR3与FR4之间。在未将特定子区指定为FR1、FR2、FR3或FR4的情况下,如其他所提及的框架区表示单一天然存在的免疫球蛋白链的可变区内的组合FR。如本文所用,FR代表四个子区中的一个。例如,FR1代表最靠近可变区氨基末端且位于相对于CDR1的5'的第一框架区。FR代表构成框架区的两个或更多个子区。

[0057] HHLA2:如本文所用,术语“HHLA2”或“人内源性逆转录病毒-H长末端重复序列相关蛋白质2”是指B7家族的成员。HHLA2也称为HERV-H LTR-相关蛋白质2、B7y、B7H7或B7-H7。HHLA2蛋白质在正常人组织中表达有限,但是在人癌症中广泛表达。HHLA2是具有三个Ig样结构域(IgV-IgC-IgV)的膜蛋白质,而B7家族的其他成员通常只具有两个Ig结构域(IgV-IgC)。正常人组织中的HHLA2在肾、肠、胆囊和乳腺的上皮以及胎盘滋养层细胞中表达。在免疫系统中,HHLA2在人单核细胞和巨噬细胞上组成型表达。HHLA2调控人T细胞和NK细胞功能,该功能包括例如T细胞和NK细胞增殖和细胞因子产生。HHLA2在广泛范围的人癌症中以较高水平表达,该人癌症包括但不限于结直肠癌、肾癌、肺癌、胰腺癌、卵巢癌和前列腺癌。HHLA2还在人甲状腺癌、黑色素瘤、肝癌、膀胱癌、结肠癌、肾癌、乳腺癌和食管组织癌中表达。

[0058] 术语“HHLA2”包括其片段、变体(例如,等位基因变体)和衍生物。代表性人HHLA2 cDNA和人HHLA2蛋白质序列可从美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)公开获取。人HHLA2变体包括变体1(NM_007072.3和NP_009003.1,该变体代表最长的转录物并且编码最长的同工型a)、变体2(NM_001282556.1和NP_001269485.1,与变体1相比,该变体包含交替(alternate)启动子并且在5' UTR上有所不同)、变体3(NM_001282557.1和NP_001269486.1,与变体1相比,该变体包含交替启动子并且在5' UTR上有所不同)、变体4(NM_001282558.1和NP_001269487.1,与变体1相比,该变体编码同工型b,包含交替启动子,在5' UTR上有所不同并且在3' 编码区中缺少交替的框内外显子,产生比同工型a更短的同工型)以及变体5(NM_001282559.1和NP_001269488.1,与变体1相比,该变体编码同工型c,包含交替启动子,具有不同的5' UTR,并且翻译起始从交替起始密码子开始,产生不同的N-末端和比同工型a更短的多肽)。

[0059] 宿主细胞:如本文所用,术语“宿主细胞”是指外源DNA(重组或其他)已被引入到其中的细胞。本领域技术人员在阅读本公开后将理解,此类术语不仅指特定的受试细胞,而且指此种细胞的后代。因为某些修饰可能会由于突变或环境影响而在接续传代中发生,因此此类后代可能实际上与亲代细胞不是同一的,但仍包括在如本文所用的术语“宿主细胞”的范围内。在一些实施方案中,宿主细胞包括选自适合于表达外源DNA(例如,重组核酸序列)

的任何生命界的原核和真核细胞。示例性细胞包括原核生物和真核生物的细胞(单细胞或多细胞)、细菌细胞(例如,大肠杆菌(*E.coli*)、芽孢杆菌属种(*Bacillus spp.*)或链霉菌属种(*Streptomyces spp.*)的菌株)、分枝杆菌细胞、真菌细胞、酵母细胞(例如,酿酒酵母(*S.cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*S.pombe*)、巴斯德毕赤酵母(*P.pastoris*)或甲醇毕赤酵母(*P.methanolica*))、植物细胞、昆虫细胞(例如,SF-9、SF-21、受杆状病毒感染的昆虫细胞或粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*))、非人动物细胞、人细胞或细胞融合物(例如,杂交瘤或四重杂交瘤(*quadromas*))。在一些实施方案中,宿主细胞包括或为人、猴、猿、仓鼠、大鼠或小鼠细胞。在一些实施方案中,宿主细胞包含以下中的一者或多者:CHO(例如,CHO K1、DXB-1 1CHO、Veggie-CHO)、COS(例如,COS-7)、视网膜细胞、Vero、CV1、肾(例如,HEK293、293EBNA、MSR 293、MDCK、HaK、BHK)、HeLa、HepG2、WI38、MRC 5、Colo205、HB 8065、HL-60(例如,BHK21)、Jurkat、Daudi、A431(表皮)、CV-1、U937、3T3、L细胞、C127细胞、SP2/0、NS-0、MMT 060562、塞尔托利氏细胞、BRL 3A细胞、HT1080细胞、骨髓瘤细胞、肿瘤细胞或来源于前面提到的细胞的细胞系。在一些实施方案中,宿主细胞包含一种或多种病毒基因。

[0060] 人抗体:如本文所用,术语“人抗体”是指具有由人免疫球蛋白序列产生(或组装)的可变区和恒定区的抗体。即使抗体或其抗原结合片段的氨基酸序列包含(诸如在一个或多个CDR,尤其CDR3中包含)不由人种系免疫球蛋白序列编码的残基或元件(例如,可以通过随机或定点诱变体外引入或者通过体细胞突变体内引入的序列变型),该抗体或其抗原结合片段也可以被视为“人”的。

[0061] 人源化:如本文所用,术语“人源化”是指这样的抗体分子或其抗原结合片段,该抗体分子或其抗原结合片段的氨基酸序列包含来自在非人物种(例如,小鼠)中产生的参考抗体的 V_H 区和/或 V_L 区序列,但是在这些序列中还包含旨在使它们更“类人”或更类似于人种系可变区序列的相对于参考抗体的修饰。在一些实施方案中,人源化抗体分子或其抗原结合片段是免疫特异性地结合至所关注的抗原,并且具有基本上具有人抗体的氨基酸序列的FR区和基本上具有非人抗体的氨基酸序列的CDR的抗体分子或其抗原结合片段。人源化抗体分子包含基本上所有的至少一个且通常两个可变结构域(Fab , Fab' , $F(ab')_2$, $FabC$, Fv),其中所有或基本上所有CDR区对应于非人免疫球蛋白(例如,供体免疫球蛋白),并且所有或基本上所有框架区对应于人免疫球蛋白共有序列。在一些实施方案中,人源化抗体分子还包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。在一些实施方案中,人源化抗体分子包含轻链以及至少重链的可变结构域两者。抗体分子还可包含重链恒定区的CH1、铰链、CH2、CH3和任选的CH4区。在一些实施方案中,人源化抗体分子仅含有人源化VL区。在一些实施方案中,人源化抗体分子仅含有人源化VH区。在一些某些实施方案中,人源化抗体分子含有人源化VH区和VL区。

[0062] 免疫球蛋白:如本文所用,术语“免疫球蛋白”或“Ig”是指一类起抗体分子作用的蛋白质。B细胞表达的抗体分子可以被称为BCR(B细胞受体)或抗原受体。该类蛋白质所包括的五个成员是IgA、IgG、IgM、IgD和IgE,这些成员进一步包括亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。IgA是存在于身体分泌物(诸如唾液、泪液、母乳、胃肠道分泌物以及呼吸道和泌尿生殖道的粘液分泌物)中的一抗。IgG是最常见的循环抗体。IgM是大多数受试者的初级免疫反应中产生的主要免疫球蛋白。它是在凝集、补体固定和其他抗体反应方面最有效的免疫球蛋白,并且在防御细菌和病毒方面很重要。IgD是不具有已知抗体功能但可用作抗原受体

的免疫球蛋白。IgE是一种通过在暴露于过敏原后引起介体从肥大细胞和嗜碱性粒细胞释放来介导速发型超敏反应的免疫球蛋白。

[0063] 同一性:如本文所用,术语“同一性”是指两个聚合物分子之间、特别是两个氨基酸分子之间诸如两个多肽分子之间的亚基序列同一性。当两个氨基酸序列在相同位置处具有相同残基时;例如,如果两个多肽分子的每一个多肽分子中的某一位置被精氨酸占据,则它们在该位置处是同一的。两个氨基酸序列在比对中在相同位置处具有相同残基的同一性或程度通常表示为百分比。两个氨基酸序列之间的同一性是匹配的或同一的位置的数目的直接函数,例如,如果两个序列中的一半位置(例如,长度为10个氨基酸的聚合物中的五个位置)是同一的,则这两个序列是50%同一的;如果90%的位置(例如,长度为10个氨基酸的聚合物中的九个位置)是同一的,则这两个氨基酸序列是90%同一的。

[0064] 基本同一性:如本文所用,术语“基本同一性”是指氨基酸或核酸序列之间的比较。如本领域普通技术人员将理解的,如果两个序列在相应的位置中含有同一的残基,则它们通常被认为是“基本上同一的”。如本领域所熟知的,可使用多种算法(包括可在商业计算机程序中获得的那些算法,诸如用于核苷酸序列的BLASTN以及用于氨基酸序列的BLASTP、缺口BLAST和PSI-BLAST)中的任一种来比较氨基酸或核酸序列。在一些实施方案中,如果两个序列的相应残基的至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多在相关残基段上是同一的,则它们被认为是基本上同一的。在一些实施方案中,相关段是完整序列。在一些实施方案中,相关段是至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500个或更多个残基。在CDR的上下文中,提及“基本同一性”通常是指具有与参考CDR的氨基酸序列至少80%、优选至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%同一的氨基酸序列的CDR。

[0065] 免疫效应细胞:如本文所用,术语“免疫效应细胞”是指参与免疫反应(例如,促进免疫反应)的细胞。免疫效应细胞的实例包括但不限于T细胞、自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞、单核细胞、树突细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、血小板、大颗粒淋巴细胞、朗格汉斯细胞或B淋巴细胞。

[0066] 免疫反应:如本文所用,术语“免疫反应”是指当淋巴细胞将抗原分子识别为外源物并诱导抗体的形成和/或活化淋巴细胞以移除抗原时发生的对抗原的细胞和/或全身反应。在一些实施方案中,免疫细胞反应可以包括免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的增殖、免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的细胞因子产生、以及/或者免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)对包含穿孔素和/或颗粒酶的细胞毒性颗粒的释放。

[0067] “改善”、“增加”、“抑制”或“减少”:如本文所用,术语“改善”、“增加”、“抑制”、“减少”或其语法等效物指示相对于基线或其他参考测量值的值。在一些实施方案中,适当的参考测量值为或包括在不存在存在特定剂或治疗(例如,在特定剂或治疗之前和/或之后)的其他方面可比的条件下或在存在适当的可比参考剂的情况下在特定系统中(例如,在单个个体中)的测量值。在一些实施方案中,适当的参考测量值为或包括在已知或预期在相关剂或治疗的存在下以特定方式作出反应的可比系统中的测量值。

[0068] 调节:如本文所用,术语“调节”是指与未接受治疗的受试者或未经治疗的受试者中的反应水平和/或性质相比,介导受试者中的反应水平的可检测增加或减少以及/或者反

应性质的改变。该术语涵盖扰乱和/或影响原生信号或反应,从而在受试者、优选人中介导有益的治疗反应。

[0069] 单克隆抗体:如本文所用,术语“单克隆抗体”或“mAb”是指从基本上同质的抗体群体中获得的抗体,使得群体中的单个抗体是基本上同一的并且/或者结合相同的表位,但可能的变体抗体除外(例如,含有天然存在的突变或在单克隆产生期间产生的变体抗体),此类变体通常以微量存在。与通常包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体分子的多克隆抗体制备物不同的是,此种制备物中的每个单克隆抗体分子均是针对抗原上的单个决定簇。因此,“单克隆”通常表示抗体群体不是离散抗体的混合物。

[0070] 核酸分子:如本文所用,术语“核酸分子”是指至少三个核苷酸的聚合物。在一些实施方案中,核酸分子包括DNA。在一些实施方案中,核酸分子包括RNA。在一些实施方案中,核酸分子是单链的。在一些实施方案中,核酸分子是双链的。在一些实施方案中,核酸分子包含单链和双链部分两者。在一些实施方案中,核酸分子包含含有一个或多个磷酸二酯键联的主链。在一些实施方案中,核酸分子包含含有磷酸二酯键联和非磷酸二酯键联二者的主链。例如,核酸分子可包含含有一个或多个硫代磷酸酯或5'-N-亚磷酰胺键联和/或一个或多个肽键的主链,例如,如在肽核酸分子中。在一些实施方案中,核酸分子包含一个或多个或所有天然残基(例如,腺嘌呤、胞嘧啶、脱氧腺苷、脱氧胞苷、脱氧鸟苷、脱氧胸苷、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和/或尿嘧啶)。在一些实施方案中,核酸分子包含一个或多个或所有非天然残基。在一些实施方案中,非天然残基包括核苷类似物(例如,2-氨基腺苷、2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并嘧啶、3-甲基腺苷、5-甲基胞苷、C-5丙炔基胞苷、C-5丙炔基尿苷、2-氨基腺苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-丙炔基尿苷、C5-丙炔基胞苷、C5-甲基胞苷、2-氨基腺苷、7-脱氮腺苷、7-脱氮鸟苷、8-氧代腺苷、8-氧代鸟苷、0(6)-甲基鸟嘌呤、2-硫代胞苷、甲基化碱基、插入型碱基或它们的组合)。在一些实施方案中,与天然残基中的糖相比,非天然残基包含一种或多种经修饰的糖(例如,2'-氟核糖、核糖、2'-脱氧核糖、阿拉伯糖、己糖或者它们的组合)。在一些实施方案中,核酸分子具有编码功能性基因产物(诸如RNA或多肽)的核苷酸序列。在一些实施方案中,核酸分子具有包含一个或多个内含子的核苷酸序列。在一些实施方案中,核酸分子可通过从天然来源分离、酶促合成(例如,通过基于互补模板的聚合,例如在体内或体外)、在重组细胞或系统中复制或化学合成来制备。在一些实施方案中,核酸分子的长度为至少3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000个或更多个残基。

[0071] 药学上可接受的:如本文所用,术语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内适用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症并与合理的效益/风险比相称的化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0072] 药学上可接受的载剂:如本文所用,术语“药学上可接受的载剂”是指参与将主题化合物从身体的一个器官或部分携带或运送至身体的另一个器官或部分的药学上可接受的材料、组合物或媒介物,诸如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂或溶剂包封材料。每种载剂在与制剂的其他成分相容且不会对受试者造成伤害的意义上必须是“可接受的”。一些示例性药学上可接受的载剂包括但不限于糖,诸如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,诸如玉米淀粉

和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,诸如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素;黄蓍胶粉末;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,诸如可可脂和栓剂蜡;油,诸如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;二醇,诸如丙二醇;多元醇,诸如甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇;酯,诸如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,诸如氢氧化镁和氢氧化铝;藻酸;无热原水;等渗盐水;林格氏溶液;乙醇;pH缓冲溶液;聚酯、聚碳酸酯或聚酸酐;或者它们的组合以及用于药物制剂的其他无毒相容性物质。

[0073] 多肽:如本文所用,术语“多肽”或“蛋白质”是指通常通过肽键连接的残基(例如,氨基酸)的任何聚合物链。在一些实施方案中,多肽具有自然界中存在的氨基酸序列。在一些实施方案中,多肽具有自然界中不存在的氨基酸序列。在一些实施方案中,多肽具有工程化的氨基酸序列,因为它通过人的手部动作来设计和/或产生的。多肽可包含天然氨基酸、非天然氨基酸或两者或者由天然氨基酸、非天然氨基酸或两者组成。多肽可包含仅天然氨基酸或仅非天然氨基酸或者由仅天然氨基酸或仅非天然氨基酸组成。多肽可包含D-氨基酸、L-氨基酸或两者。多肽可包括例如在N-末端、C-末端或两者处修饰或附接到一个或多个氨基酸侧链的一个或多个侧基或其他修饰。在一些实施方案中,此类侧基或修饰选自乙酰化、酰胺化、脂化、甲基化或聚乙二醇化,包括它们的组合。多肽可以是环状的并且/或者可包含环状部分。在一些实施方案中,多肽不是环状的,并且/或者不包含任何环状部分。在一些实施方案中,多肽是线性的。多肽可以为或包括钉合多肽(stapled polypeptide)。术语“多肽”可以附加到参考多肽、活性或结构的名称;在这种情况下,它在本文中用于指如下多肽,该多肽共享相关活性或结构,因此可被认为是多肽的同一类别或家族的成员。对于每个这样的类别,本公开提供了和/或本领域技术人员将知道该类别内的示例性多肽,它们的氨基酸序列和/或功能是已知的。在一些实施方案中,此类示例性多肽是针对该多肽类别或家族的参考多肽。在一些实施方案中,多肽类别或家族的成员显示出与该类别的参考多肽的显著的序列同源性或同一性,与该类别的参考多肽共有共同的序列基序(例如,特征序列元件),并且/或者与该类别的参考多肽共有共同的活性(在一些实施方案中,处于相当的水平或在指定范围内)。例如,成员多肽可以与参考多肽具有为至少约30-40%且通常为约50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的总体序列同源性或同一性程度,并且/或者包括至少一个显示出非常高的序列同一性(通常大于90%或甚至95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性)的区域(例如,可以为或包括特征序列元件的保守区)。这样的保守区通常涵盖至少3至4个且通常最多至20个或更多个氨基酸;在一些实施方案中,保守区涵盖至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更多个连续氨基酸的至少一段。有用的多肽可包含亲本多肽的片段或由亲本多肽的片段组成。有用的多肽可包含多个片段或由多个片段组成,每个片段在同一亲本多肽中以与在感兴趣的多肽中发现的不同的相对于彼此的空间排列被发现(例如,在亲本中直接连接的片段可在感兴趣的多肽中被空间分离,反之亦然,并且/或者片段可在感兴趣的多肽中以与在亲本中不同的顺序存在),使得感兴趣的多肽是其亲本多肽的衍生物。

[0074] scFv:如本文所用,术语“scFv”是指包含至少一个含有轻链的可变区的抗体片段和至少一个含有重链的可变区的抗体片段的融合蛋白质,其中轻链可变区和重链可变区通过短柔性多肽接头连续连接。scFv能够表达为单链多肽,并且保留其所来源的完整抗体的特异性。除非另外指明,否则scFv可以具有相对于多肽的N-末端和C-末端的处于任何顺

序的 V_L 区和 V_H 区,以使得scFv可以包含 V_L -接头- V_H 或者可以包含 V_H -接头- V_L 。

[0075] 受试者:如本文所用,术语“受试者”是指生物体,例如哺乳动物(例如,人类、非人哺乳动物、非人灵长类动物、灵长类动物、实验动物、小鼠、大鼠、仓鼠、沙鼠、猫或犬)。在一些实施方案中,人类受试者为成人、青少年或儿科受试者。在一些实施方案中,受试者患有疾病、病症或疾患,例如可以如本文所提供那样治疗的疾病、病症或疾患,例如本文列出的癌症或肿瘤。在一些实施方案中,受试者易患疾病、病症或疾患。在一些实施方案中,易感受试者易患疾病、病症或疾患和/或表现出增加的发展疾病、病症或疾患的风险(与在参考受试者或群体中观察到的平均风险相比)。在一些实施方案中,受试者表现出疾病、病症或疾患的一种或多种症状。在一些实施方案中,受试者未表现出疾病、病症或疾患的特定症状(例如,疾病的临床表现)或特征。在一些实施方案中,受试者未展示疾病、病症或疾患的任何症状或特征。在一些实施方案中,受试者为患者。在一些实施方案中,受试者是已被施用一种或多种诊断或疗法的个体。

[0076] 基本上:如本文所用,术语“基本上”是指展现总体或接近总体范围或程度的目标特征或特性的定性情况。生物学领域的普通技术人员应当理解的是生物学以及化学现象很少(如果有的话)会达到完成,和/或进行到完成或实现或避免绝对的结果。因此,术语“基本上”在本文中被用来描述许多生物和化学现象中固有的潜在缺乏完整性。

[0077] 治疗性:如本文所用,术语“治疗性”是指治疗和/或预防。治疗效果例如通过抑制、缓解或根除疾病状态获得。

[0078] 治疗有效量:如本文所用,术语“治疗有效量”意指物质(例如,治疗剂、组合物和/或制剂)在作为治疗方案的一部分施用时引发所需生物反应的量。在一些实施方案中,物质的治疗有效量是当施用于患有或易患疾病、病症和/或疾患的受试者时足以治疗、诊断、预防该疾病、病症和/或疾患和/或延迟其发作的量。如本领域普通技术人员将理解,物质的有效量可根据诸如期望的生物学终点、待递送的物质和/或靶细胞或组织之类的因素而变化。例如,用于治疗本文所述的疾病、病症或疾患的制剂中的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的有效量是缓和、改善、缓解、抑制、预防该疾病、病症或疾患,延迟该疾病、病症或疾患的发作,减轻该疾病、病症或疾患的严重度,以及/或者减少该疾病、病症或疾患的一种或多种症状或特征的发生的量。在一些实施方案中,治疗有效量以单剂量施用。在一些实施方案中,需要多个单位剂量来递送治疗有效量。

[0079] TMIGD2:如本文所用,术语“TMIGD2”或“含有跨膜和免疫球蛋白结构域的蛋白质2(TMIGD2)”是指具有胞外IgV样结构域、跨膜区和富含脯氨酸的胞质结构域以及两个酪氨酸信号传导基序的膜蛋白质。TMIGD2在初始T细胞和NK细胞上组成型表达,但是不在T调控细胞或B细胞上表达。TMIGD2表达随着T细胞的重复刺激而缓慢丧失。与此一致的是,TMIGD2仅在约一半的记忆T细胞上表达,并且TMIGD2阴性T细胞具有终末分化的衰老表型。TMIGD2还在内皮细胞和上皮细胞中表达,并且在血管生成期间起到减少细胞迁移并促进毛细管形成的作用。

[0080] 术语“TMIGD2”旨在包括其片段、变体(例如,等位基因变体)和衍生物。代表性人TMIGD2 cDNA和人TMIGD2蛋白质序列可从NCBI公开获取。人TMIGD2同工型包括同工型1(NM_144615.2和NP_653216.2)、同工型2(NM_001169126.1和NP_001162597.1;与变体1相比,该同工型在3' 编码区中使用交替的框内剪接位点,产生比同工型1更短的同工型)、以及同工

型3(NM_001308232.1和NP_001295161.1;与变体1相比,该同工型在5' 编码区中缺乏交替的框内外显子,产生比同工型1更短的同工型)。除人之外的其他生物体中的TMIGD2直系同源物的核酸和多肽序列也是已知的,包括,例如,黑猩猩TMIGD2(XM_009434393.2和XP_009432668.2以及XM_001_138228.4和XP_001138228.3)和牛TMIGD2(XM_005208980.3和XP_005209037.1、XM_005208979.3和XP_005209036.1以及XM_002688933.5和XP_002688979.1)。

[0081] 治疗:如本文所用,术语“治疗(treat)”、“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”是指本文所述的疾病、病症和/或疾患的一种或多种症状或特征的部分或完全缓和、改善、发作延迟、抑制、预防、缓解以及/或者发生率和/或严重度的降低。在一些实施方案中,治疗被施用于未表现出疾病、病症和/或疾患的体征或特征的受试者(例如,可以是预防性的)。在一些实施方案中,治疗被施用于表现出本文所述的疾病、病症和/或疾患的早期或轻微体征或特征的受试者,例如以降低发展成与本文所述的疾病、病症和/或疾患相关的病理的风险。在一些实施方案中,治疗被施用于表现出本文所述的疾病、病症和/或疾患的已确定、严重和/或晚期的体征的受试者。在一些实施方案中,治疗包括将本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或其抗原结合片段施用于受试者。

[0082] 肿瘤:如本文所用,术语“肿瘤”是指细胞或组织的异常生长。肿瘤可包含癌前的(例如,良性的)、恶性的、转移前的、转移性的和/或非转移性的细胞。在一些实施方案中,肿瘤与癌症相关或者是癌症的表现。在一些实施方案中,肿瘤是弥散性肿瘤或液体肿瘤。在一些实施方案中,肿瘤是实体瘤。

[0083] 在本公开全文中,各个方面可以以范围格式呈现。应当理解,以范围格式进行的描述仅仅是为了方便和简洁,而不应被解读为对本公开的范围进行僵化限制。因此,范围的描述应被认为具有具体公开的所有可能子范围以及该范围内的单个数值。例如,对范围诸如1至6的描述应被认为具有具体公开的子范围,诸如1至3、1至4、1至5、2至4、2至6和3至6,以及该范围内的单个数字,例如,1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5和6。无论范围有多广,这都适用。

具体实施方式

[0084] 除其他外,本公开提供了双特异性抗体分子或其抗原结合片段,该双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以:(i)通过选择性结合至至少一种TAA来靶向癌细胞;并且(ii)募集和活化肿瘤微环境(TME)中的包含或表达含有跨膜和免疫球蛋白结构域的蛋白质2(TMIGD2)的免疫效应细胞(例如,T细胞(例如,初始T细胞和/或效应T细胞)和/或NK细胞),从而靶向癌细胞进行破坏。因此,本公开提供了此类特别可用于治疗包括实体瘤或血液肿瘤在内的多种癌症,以及调节受试者中的免疫反应的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的若干实例。

[0085] 双特异性抗体分子及其抗原结合片段

[0086] 除其他外,本公开提供了双特异性抗体分子或其抗原结合片段。本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以具有针对至少两种抗原的特异性。双特异性抗体分子或其抗原结合片段的特征可以在于,具有针对第一抗原的结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列,以及具有针对第二抗原的结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列。

[0087] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以包含：(i) 第一抗原结合结构域，其选择性结合至含有跨膜和免疫球蛋白结构域的蛋白质2(TMIGD2)；以及(ii) 第二抗原结合结构域，其选择性结合至本文所述的至少一种肿瘤相关抗原(TAA) (例如，HLA2)。在一些实施方案中，第一抗原结合结构域活化免疫效应细胞(例如，T细胞(例如，初始T细胞和/或效应T细胞)和/或NK细胞)以及/或者将该免疫效应细胞募集至肿瘤微环境(TME)。在一些实施方案中，本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含：(i) 第一抗原结合结构域，其选择性结合免疫效应细胞(例如，T细胞和/或NK细胞)上的TMIGD2，从而募集和/或活化TME中的免疫效应细胞；以及(ii) 第二抗原结合结构域，其选择性结合本文所述的至少一种TAA。

[0088] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的第一抗原结合结构域可以选择性结合至TMIGD2上的至少一个表位。本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的第二抗原结合结构域可以选择性结合至本文所述的TAA的至少一个表位。在一些实施方案中，至少一种TAA包括或为HLA2、CD123、B7-H3、B7-H4、CD33、CD30、HER2、CD22、CD79b、结合素-4、Trop-2、BCMA、CD19、叶酸受体 α 、EGFR或它们的组合。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为HLA2(也称为B7 γ 、B7H7或B7-H7)。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为CD123。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为B7-H3。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为B7-H4。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为CD33。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为CD30。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为HER2。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为CD22。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为CD79b。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为结合素-4。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为Trop-2。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为BCMA。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为CD19。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为叶酸受体 α 。在某些实施方案中，至少一种TAA包括或为EGFR。

[0089] 在一些实施方案中，至少一种TAA包括或为以下中的一者或多者：HLA2(也称为B7 γ 、B7H7或B7-H7)；CD20；CD19；CD123；CD22；CD30；CD171；CS-1(也称为CD2子集1、CRACC、SLAM F7、CD319和19A24)；C型凝集素样分子-1(CLL-1或CLECL1)；CD33；表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)；神经节苷脂G2(GD2)；神经节苷脂GD3(aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer)；TNF受体家族成员；B细胞成熟(BCMA)；Tn抗原(Tn Ag或GalNAc α -Ser/Thr)；前列腺特异性膜抗原(PSMA)；受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)；FMS样酪氨酸激酶3(FLT3)；肿瘤相关糖蛋白质72(TAG72)；CD38；CD44v6；癌胚抗原(CEA)；上皮细胞粘附分子(EPCAM)；B7H3(CD276)；KIT(CD117)；白介素-13受体亚基 α -2(IL-13Ra2或CD213A2)；间皮素；白介素11受体 α (IL-11Ra)；前列腺干细胞抗原(PSCA)；蛋白酶丝氨酸21(羧蛋白或PRSS21)；血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)；路易斯(Y)抗原；CD24；血小板源性生长因子受体 β (PDGFR- β)；阶段特异性胚胎抗原-4(SSEA-4)；叶酸受体 α ；HER2(也称为受体酪氨酸蛋白激酶erbB-2或CD340)；细胞表面相关粘蛋白1(MUC1)；表皮生长因子受体(EGFR)；神经细胞粘附分子(NCAM)；前列腺酶(也称为激肽释放酶4(KLK4)或EMS P1)；前列腺酸性磷酸酶(PAP)；突变型延伸因子2(ELF2M)；ephrin B2；成纤维细胞活化蛋白 α (FAP)；胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体)、碳酸酐酶IX(CAIX)；LMP2；糖蛋白质100(gp100)；由断裂点簇集区(BCR)和abelson鼠白血病病毒癌基因同源物1(Abl)组成的癌基因融合蛋白

(bcr-abl);酪氨酸酶;ephrin A型受体2(EphA2);岩藻糖基GM1;唾液酸基路易斯粘附分子(sLe);神经节苷脂GM3(aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDG1cp(1-1)Cer);谷氨酰胺转氨酶5(TGS5);高分子量黑素瘤相关抗原(HMWMAA);邻乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2);叶酸受体 β ;肿瘤内皮标志物1(TEM1/CD248);肿瘤内皮标志物7相关蛋白质(TEM7R);封闭蛋白(claudin)6(CLDN6);促甲状腺激素受体(TSHR);G蛋白质偶联受体C类5组成员D(GPRC5D);X染色体开放阅读框61(CXORF61);CD97;CD179a;间变性淋巴瘤激酶(ALK);聚唾液酸;胎盘特异性蛋白质1(PLAC1);glob oH糖神经酰胺的六糖部分(GloboH);乳腺分化抗原(NY-BR-1);尿溶蛋白(uroplakin)2(UPK2);甲肝病毒细胞受体1(HAVCR1);肾上腺素受体 β 3(ADRB3);泛连接蛋白3(PANX3);G蛋白质偶联受体20(GPR20);淋巴细胞抗原6复合物K 9基因座(LY6K);嗅觉受体51E2(OR51E2);TCR γ 交替阅读框蛋白质(TARP);威尔姆斯肿瘤蛋白质(WT1);癌症/睾丸抗原1(NY-ESO-1);癌症/睾丸抗原2(LAGE-1a);黑素瘤相关抗原1(MAGE-A1);定位于12p染色体上的ETS易位变体基因6(ETV6-AML);精子蛋白质17(SPA17);X抗原家族,诸如成员1A(XAGE1);血管生成素结合性细胞表面受体2(Tie 2);黑素瘤癌症睾丸抗原-1(MAD-CT-1);黑素瘤癌症睾丸抗原-2(MAD-CT-2);Fos相关抗原1;肿瘤蛋白质p53(p53);p53突变体;前列腺素;存活蛋白;端粒酶;前列腺癌肿瘤抗原-1(PCTA-1或半乳糖凝集素8),由T细胞识别的黑素瘤抗原1(MelanA或MART1);大鼠肉瘤(Ras)突变体;人端粒酶逆转录酶(hTERT);肉瘤易位断裂点蛋白;黑素瘤细胞凋亡抑制剂(ML-IAP);ERG;N-乙酰葡萄糖胺转移酶V(NA17);配对盒蛋白质Pax-3(PAX3);雄激素受体;细胞周期蛋白B1;v-myc禽骨髓细胞瘤病毒致癌基因成神经细胞瘤源性同源物(MYC N);Ras同源物家族成员C(RhoC);酪氨酸酶相关蛋白质2(TRP-2);细胞色素P450 1B1(CYP1B1);CCCTC结合因子(锌指蛋白质)样(BORIS或印迹位点调控物兄弟因子),由T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3(SART3);配对盒蛋白质Pax-5(PAX5);前顶体蛋白结合蛋白质sp32(OY-TES1);淋巴细胞特异性蛋白质酪氨酸激酶(LCK);激酶锚定蛋白质4(AKAP-4);滑膜肉瘤X断点2(SSX2);晚期糖化终产物受体(RAGE-1);肾遍在蛋白1(RU1);肾遍在蛋白2(RU2);豆荚蛋白酶(legumain);人乳头状瘤病毒E6(HPV E6);人乳头状瘤病毒E7(HPV E7);肠羧酸酯酶;突变型热激蛋白质70-2(mut hsp70-2);CD79a;CD79b;CD72;白细胞相关免疫球蛋白样受体1(LAIR1);IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89);白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2);CD300分子样家族成员f(CD300LF);C型凝集素结构域家族12成员A(CLEC12A);骨髓基质细胞抗原2(BST2);含有EGF样模块的粘蛋白样激素受体样蛋白质2(EMR2);淋巴细胞抗原75(LY75);磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3);Fc受体样蛋白质5(FCRL5);免疫球蛋白 λ 样多肽1(IGLL1);或者它们的组合。本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的第一抗原结合结构域可以包括或为抗体分子或其抗原结合片段。本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的第二抗原结合结构域可以包括或为抗体分子或其抗原结合片段。抗体分子或其抗原结合片段可以是任何免疫结合部分,该免疫结合部分包括但不限于scFv、Fab、Fab'、Fab'₂、Fab₂、Fab₃、F(ab')₂、Fd、Fd'、Fv、Feb、双价抗体、三价抗体、四价抗体、微抗体、大抗体、tandab、DVD、BiTe、TandAb、单结构域抗体(例如,鲨鱼单结构域抗体,诸如IgNAR或其片段)、骆驼科动物抗体、全长抗体、经掩蔽抗体(例如, **Probodyes®**)、小模块免疫药物(SMIP™)、单链或串联双价抗体(**TandAb®**)、VHH、**Anticalin®**、**Nanobody®**、**BiTE®**、锚蛋白重复蛋白质或**DARPIN®**、**Avimer®**、**DART**、**TCR-like antibody**、**Adnectin®**、**Affilin®**、**Trans-body®**、**Affibody®**、**TrimerX®**、

MicroProtein、Fynomer®、Centyrin®、KALBITOR®或者它们的任何组合。

[0090] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的第一抗原结合结构域包括或为其抗原结合片段。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的第二抗原结合结构域包括或为其抗原结合片段。抗原结合片段可以包括或为任何这样的含多肽或肽的分子,该含多肽或肽的分子包含含有来源于任何抗体(例如,本文所述的抗体)的 V_H 或 V_L 的至少一个互补决定区(CDR)的免疫球蛋白的至少一部分。可以使用本领域的技术人员已知的常规技术来获得抗原结合片段,并且以与完整抗体相同的方式来筛选该片段的效用。此类功能性抗体片段可以保留与TMIGD2或本文所述的至少一种TAA选择性结合的能力。

[0091] 本文所述的抗原结合片段的实例可以包括但不限于:(i) Fab片段,其为包含 V_L 、 V_H 、CL和CH1结构域的一价片段;(ii) $F(ab')_2$ 片段,其为包含通过铰链区处的二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;(iii) Fd片段,其包含 V_H 和CH1结构域;(iv) Fv片段,其包含抗体的单臂的 V_L 结构域和 V_H 结构域,(v) 双价抗体(dAb)片段,其包含 V_H 结构域;(vi) 骆驼科动物或骆驼科动物源化可变结构域;(vii) scFv,其为 V_H 区和 V_L 区的融合蛋白质;(viii) 单结构域抗体;或者(viii) 重链和轻链(例如,半抗体)。在某些实施方案中,本文所述的抗原结合片段包括或为scFv。

[0092] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的第一抗原结合结构域可以包括或为全长抗体,例如,包含免疫球蛋白Fc区的全长抗体。本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的第二抗原结合结构域可以包括或为全长抗体,例如,包含Fc区的全长抗体。在一些实施方案中,相对于参考抗体或其抗原结合片段,Fc区具有降低的效应功能。在一些实施方案中,Fc区包含用于减少Fc区的糖基化的修饰。在一些实施方案中,修饰包括以下氨基酸取代中的一者或多者:根据EU索引编号的N297A、L234A、L235A、C220、C226S、C229S、P238S、C226S、C229S、E3233P、L234V、L235A、L234F、L235E、P331S或者它们的组合。在一些方面,该修饰包括在根据EU索引编号的位置234、235、237或它们的组合处的CH2区中的一个或多个氨基酸取代。

[0093] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体或其抗原结合片段可以包含 V_H 结构域和 V_L 结构域。在一些实施方案中,抗体或其抗原结合片段包括四条多肽链(例如,两条重链和两条轻链)的免疫球蛋白分子。重链可以包含 V_H 结构域和重链恒定结构域。重链恒定结构域可以包含CH1、铰链、CH2、CH3和任选地CH4区。轻链可以包含 V_L 结构域和轻链恒定结构域。轻链恒定结构域可以包含CL结构域。

[0094] V_H 和/或 V_L 可以进一步细分为变异性区域(称为CDR),该变异性区域中散布有更为保守的区域(称为框架区(FR))。此类 V_H 结构域和/或 V_L 结构域可以各自包含从氨基末端至羧基末端按以下顺序布置的三个CDR和四个框架区:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4,它们中的一者或多者可以如本文所述那样被工程化。一般而言,每个 V_H 区中有三个CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3),并且每个 V_L 区中有三个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。框架区和CDR可以使用多个熟知的方案来定义(参见,例如,Kabat,E.A.等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242;Chothia,C.等人(1987) J.Mol.Biol.196:901-917;以及Oxford Molecular的AbM抗体建模软件所使用的AbM定义,这些中的每一者据此以引用的方式整体

并入)。

[0095] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体或其抗原结合片段可以为或包含：(a) VH,其包含一个、两个或三个VH CDR序列,每个VH CDR序列与表1-5中的VH CDR具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性;以及/或者(b) VL,其包含一个、两个或三个VL CDR序列,每个VL CDR序列与表1-5中的VL CDR具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性。在一些实施方案中,本文所述的抗体分子或其抗原结合片段为或包含：(a) VH,其包含一个、两个或三个VH CDR序列,每个VH CDR序列与表1-5的VH CDR具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性;以及/或者(b) VL,其包含一个、两个或三个VL CDR序列,每个VL CDR序列与表1-5的VL CDR具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性。在一些实施方案中,本文所述的抗体或其抗原结合片段为或包含：(a) VH,其包含一个、两个或三个VH CDR序列,每个VH CDR序列包括表1-5的VH CDR或由表1-5的VH CDR组成;以及/或者(b) VL,其包含一个、两个或三个VL CDR序列,每个VL CDR序列包括表1-5的VL CDR或由表1-5的VL CDR组成。

[0096] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体或其抗原结合片段可以为或包含：(a) VH,其与表1-5中的VH具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性;以及/或者(a) VL,其与表1-5中的VL具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性。在一些实施方案中,抗体分子或其抗原结合片段为或包含：(a) VH,其与表1-5的VH具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性;以及/或者(b) VL,其与表1-5的VL具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性。在一些实施方案中,抗体分子或其抗原结合片段为或包含：(a) VH,其包括表1-5的VH或由表1-5的VH组成;以及/或者(b) VL,其包括表1-5的VL或由表1-5的VL组成。

[0097] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体或其抗原结合片段可以为或包含：(a) 重链,其与表1-5中的重链具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性;以及/或者(a) 轻链,其与表1-5中的轻链具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性。在一些实施方案中,抗体分子或其抗原结合片段为或包含：(a) 重链,其与表1-5的重链具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性;以及/或者(b) 轻链,其与表1-5的轻链具有至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同一性。在一些实施方案中,抗体分子或其抗原结合片段为或包含：(a) 重链,其包括表1-5的重链或由表1-5的重链组成;以及/或者(b) 轻链,其包括表1-5的轻链或由表1-5的轻链组成。

[0098] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含：(a) VH,其包含SEQ ID NO:212的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:213的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:214的VH CDR3氨基酸序列;以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:223的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:224的VL CDR2氨基酸序列和

SEQ ID NO:225的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含:(a)SEQ ID NO:215的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:216的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:217的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:226的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:227的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:228的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:218的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:219的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:220的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:229的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:230的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:231的VL CDR3氨基酸序列。

[0099] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:211至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:222至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:211的氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:222的氨基酸序列。

[0100] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含接头,该接头包含SEQ ID NO:221的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:209的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:205的氨基酸序列。

[0101] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,该重链包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:207至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含轻链,该轻链包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:208至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,其包含SEQ ID NO:207的氨基酸序列;以及轻链,其包含SEQ ID NO:208的氨基酸序列。

[0102] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:241的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:242的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:243的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:252的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:253的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:254的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含:(a)SEQ ID NO:244的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:245的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:246的VH

CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:255的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:256的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:257的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:247的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:248的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:249的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:258的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:259的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:260的VL CDR3氨基酸序列。

[0103] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:240至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:251的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:251至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:240的氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:251的氨基酸序列。

[0104] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含接头,该接头包含SEQ ID NO:250的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:238的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:234的氨基酸序列。

[0105] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,该重链包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:236至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含轻链,该轻链包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:237至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,其包含SEQ ID NO:236的氨基酸序列;以及轻链,其包含SEQ ID NO:237的氨基酸序列。

[0106] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:270的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:271的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:272的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:281的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:282的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:283的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含:(a)SEQ ID NO:273的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:274的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:275的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:284的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:285的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:286的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包

含：(a) VH,其包含SEQ ID NO:276的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:277的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:278的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:287的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:288的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:289的VL CDR3氨基酸序列。

[0107] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:269的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:269至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:280的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:280至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:269的氨基酸序列；以及VL,其包含SEQ ID NO:280的氨基酸序列。

[0108] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含接头,该接头包含SEQ ID NO:279的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:267的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:263的氨基酸序列。

[0109] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,该重链包含SEQ ID NO:265的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:265至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含轻链,该轻链包含SEQ ID NO:266的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:266至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗CD20抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,其包含SEQ ID NO:265的氨基酸序列；以及轻链,其包含SEQ ID NO:266的氨基酸序列。

[0110] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含：(a) VH,其包含SEQ ID NO:3的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:4的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:5的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:39的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:40的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:41的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含：(a) SEQ ID NO:6的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:7的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:8的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:42的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:43的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:44的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:9的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:10的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:11的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:45的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:46的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:47的VL CDR3氨基酸序列。

[0111] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:12至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:48至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列。

[0112] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,该重链包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:14至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含轻链,该轻链包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:50至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,其包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及轻链,其包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列。

[0113] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:19的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:20的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:21的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:30的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:31的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:32的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含:(a)SEQ ID NO:22的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:23的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:24的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:33的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:34的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:35的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a)VH,其包含SEQ ID NO:25的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:26的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:27的VH CDR3氨基酸序列;以及(b)VL,其包含SEQ ID NO:36的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:37的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:38的VL CDR3氨基酸序列。

[0114] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:18至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:29至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列。

[0115] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含接头,该接头包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在一些实施方

案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的抗TMIGD2和抗HHLA2双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列。

[0116] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a) VH,其包含SEQ ID NO:54的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:55的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:56的VH CDR3氨基酸序列;以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:90的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:92的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:93的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含:(a) SEQ ID NO:57的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:58的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:59的VH CDR3氨基酸序列;以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:94的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:95的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:96的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:60的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:61的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:62的VH CDR3氨基酸序列;以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:97的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:98的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:99的VL CDR3氨基酸序列。

[0117] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:63至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:100至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列。

[0118] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,该重链包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:65至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含轻链,该轻链包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:102至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,其包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列;以及轻链,其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列。

[0119] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a) VH,其包含SEQ ID NO:70的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:71的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:72的VH CDR3氨基酸序列;以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:81的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:82的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:83的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含:(a) SEQ ID NO:73的

VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:74的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:75的VH CDR3氨基酸序列；以及 (b) VL,其包含SEQ ID NO:84的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:85的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:86的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含: (a) VH,其包含SEQ ID NO:76的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:77的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:78的VH CDR3氨基酸序列；以及 (b) VL,其包含SEQ ID NO:87的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:88的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:89的VL CDR3氨基酸序列。

[0120] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:69至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:80至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列；以及VL,其包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列。

[0121] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含接头,该接头包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:67的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的抗TMIGD2和抗HHLA2双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列。

[0122] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含: (a) VH,其包含SEQ ID NO:105的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:106的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:107的VH CDR3氨基酸序列；以及 (b) VL,其包含SEQ ID NO:141的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:142的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:143的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含: (a) SEQ ID NO:108的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:109的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:110的VH CDR3氨基酸序列；以及 (b) VL,其包含SEQ ID NO:144的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:145的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:146的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:111的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:112的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:113的VH CDR3氨基酸序列；以及 (b) VL,其包含SEQ ID NO:147的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:148的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:149的VL CDR3氨基酸序列。

[0123] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:114至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:150至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双

特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:150的氨基酸序列。

[0124] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,该重链包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:116至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含轻链,该轻链包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:152至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,其包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列;以及轻链,其包含SEQ ID NO:152的氨基酸序列。

[0125] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a) VH,其包含SEQ ID NO:121的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:122的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:123的VH CDR3氨基酸序列;以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:132的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:133的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:134的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含:(a) SEQ ID NO:124的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:125的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:126的VH CDR3氨基酸序列;以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:135的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:136的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:137的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含:(a) VH,其包含SEQ ID NO:127的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:128的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:129的VH CDR3氨基酸序列;以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:138的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:139的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:140的VL CDR3氨基酸序列。

[0126] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:120至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:131至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列;以及VL,其包含SEQ ID NO:131的氨基酸序列。

[0127] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含接头,该接头包含SEQ ID NO:130的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:118的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的抗TMIGD2和抗HLA2双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:103的氨基酸序列。

[0128] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HLA2

抗体或其抗原结合片段可以为或包含：(a) VH,其包含SEQ ID NO:156的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:157的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:158的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:192的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:193的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:194的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含：(a) SEQ ID NO:159的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:160的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:161的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:195的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:196的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:197的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:162的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:163的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:164的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:198的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:199的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:200的VL CDR3氨基酸序列。

[0129] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:165至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:201至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:165的氨基酸序列；以及VL,其包含SEQ ID NO:201的氨基酸序列。

[0130] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,该重链包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:167至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含轻链,该轻链包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:203至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗HHLA2抗体或其抗原结合片段可以为或包含重链,其包含SEQ ID NO:167的氨基酸序列；以及轻链,其包含SEQ ID NO:203的氨基酸序列。

[0131] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含：(a) VH,其包含SEQ ID NO:172的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:173的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:174的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:183的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:184的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:185的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含：(a) SEQ ID NO:175的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:176的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:177的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:186的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:187的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:188的VL CDR3氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包

含：(a) VH,其包含SEQ ID NO:178的VH CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:179的VH CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:180的VH CDR3氨基酸序列；以及(b) VL,其包含SEQ ID NO:189的VL CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:190的VL CDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:191的VL CDR3氨基酸序列。

[0132] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:171至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VL,其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:182至少85%、90%、95%或99%同一或更高百分比同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段可以为或包含VH,其包含SEQ ID NO:171的氨基酸序列；以及VL,其包含SEQ ID NO:182的氨基酸序列。

[0133] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含接头,该接头包含SEQ ID NO:181的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗TMIGD2抗体或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:169的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的抗TMIGD2和抗HLA2双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含或具有SEQ ID NO:154的氨基酸序列。

[0134] 表1. 示例性双特异性抗体分子及其抗原结合片段的氨基酸和核苷酸序列。

[0135]

克隆	序列	SEQ ID NO
TK89CB6	重链：针对 HHLA2 的 IgG 结构域+接头+针对 TMIGD2 的 scFv	
	IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-氨基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFASYKMHWVRQ APGQRLEWMGDIPAGTGNTHYSQKFQGRVTITRDTASATAY MELSSLRSEDTA VYYCARDRGYYDSDWDDWGQGLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQSGPGLVKPSQT LSLTCAISGDSVSSNSATWNWIRQSPSRGLEWLGRITYRSK WSDDYAVSVKSRMTINADTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYY CARSGLDYFDYGLDVWGKGMVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVH WYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSGSLAIT GLQAEDEADYYCQSYDSTLSGVSFVGGGKLTVLG	SEQ ID NO: 1
	IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-DNA 序列 caggtgcagctggcagagcggcggaagtgaacccggcgagcgtgaaagtg agctgcaaacgcagcggctataccttgcgagctataaaatgcattgggtgcgccagcgc ccgggccagcgccctggaatggatggcgatattccggcgccacccgcaacacccattat	SEQ ID NO: 2

[0136]

agccagaaatttcaggggccgcgtgaccattaccgcgataccagcgcgagcaccgcgtat atggaaactgagcagcctgcgcagcgaagataccgcggtgtattattgcccgcgcgatcgc ggcggctattattatgatactgggatgattggggccaggccacctggtagcgtgagc agcgcgagcaccaaaggcccagcgtgtttccgctggcgcgagcagcaaaagcaccagc ggcggcaccgcggcgtggcgtgcctggtgaaagattatttccggaaccggtgaccgtg agctggaacagcggcgcgtgaccagcggcgtgcataccttccggcgtgctgcagagc agcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgccgagcagcagcctggcaccag acctattttgcaacgtgaaccataaacgagcaacaccaaagtgataaaaaagcggaa ccgaaaagctgcgataaaaccatacctgcccgccgtgcccgccggaagcggcgggc ggcccagcgtgtttctgtttccgccgaaaccgaaagataccctgatgattagccgacc ccggaagtgaccgtgcgtggtggatgtgagccatgaagatccggaagtgaatttaac tggtatgtgagtgctggaagtgcataacgcgaaaccaaaccgcggaagaacagtat aacagcaccctatcgcgtggtgagcgtgctgaccgtgctgcatcaggattggctgaacggc aaagaatataaatgcaaaagtgaagcaacaaagcgtgccggcgcgattgaaaaaacatt agcaaaagcgaagggcagccgcgcgaaccgaggtgtatacctgccggcagccgcgat gaactgacaaaaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaaaggcttttaccgagcgtat attgctggtgaatgggaaagcaacggccagccgggaaacaactataaaaccacccgccg gtgctgtagatgagcagctttttctgtatagcaaaactgaccgtggataaaagccgc tggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatgaagcgtgcataaccattat accagaaaaagcctgagcctgagccggggcggcggcgagcggcgccggcgga ggcgccggcgccgagcggcgccggcgccgagcaggtgagctgagcagagcggccc gggctgtgtaaacgagccagacctgagcctgacctgcccgttagcggcgatagcgtga gc agcaacagcgcgacctggaactggattgccagagcccagccgcggcctggaatggctg ggcccgcacctattatcgagcaaatggagcgtgattatgcggtagcgtgaaaagccgc atgaccattaacgcggataccagcaaaaccagtttagcctgagctgaacagcgtgacc ccggaagataccgcggtgtattattgcccgcgcagcggcctggtttgattatggcctg gatgtgtggggcaaaaggcaccatgggtgaccgtgagcagcggcgccggcgagcggcgcc ggcgcgagcggcgccggcgagcggcgccggcgagcagcagcgtgctgaccagc cgccgagcgtgagcggcgccggcgccggcgagcgtgaccattagctgaccggcagcagca gc aacattggcgccggcctatgatgtgattggtatcagcagctgccgggcaccgcgcgaaa ctgctgattatggcaacaacaaccgccgagcggcgtgccggatcgctttagcggcagc aaaaagcggcaccagcggcagcctggcgattaccggcctgagcgggaagatgaagcggat tattatggcagagctatgatagcacctgagcggcagcgtgtttggcgccggcacaaa ctgaccgtgctgggc	
针对 HHLA2 的 IgG 结构域	
重链	
HCDR1 (IMGT) GYTFASYK	SEQ ID NO: 3
HCDR2 (IMGT) IPAGTGNT	SEQ ID NO: 4
HCDR3 (IMGT) ARDRGGYYYSWDD	SEQ ID NO: 5
HCDR1 (Kabat) SYKMH	SEQ ID NO: 6
HCDR2 (Kabat) DIPAGTGNTHYSQKFQG	SEQ ID NO: 7

[0137]

HCDR3 (Kabat) DRGGYYYSWDD	SEQ ID NO: 8
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GYTFASYKMH	SEQ ID NO: 9
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) DIPAGTGNTHYSQKFQG	SEQ ID NO: 10
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) DRGGYYYSWDD	SEQ ID NO: 11
VH-氨基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFASYKMHWVRQ APGQRLEWMGDIPAGTGNTHYSQKFQGRVTITRDTSASTAY MELSSLRSEDYAVYYCARDGGYYYSWDDWGQGLTVTS S	SEQ ID NO: 12
VH-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAA ACCGGGCGCGAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCGAGCG GCTATACCTTTGCGAGCTATAAAATGCATTGGGTGCGCCAG GCGCCGGGCCAGCGCCTGGAATGGATGGGCGATATTCCGG CGGGCACCGGCAACACCCATTATAGCCAGAAATTCAGGG CCGCGTGACCATTAACCCGCGATACCAGCGCGAGCACCGCG TATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGCAGCGAAGATACCGCGG TGTATTATTGCGCGCGCGATCGCGGCGGCTATTATTATGATA GCTGGGATGATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGA GCAGC	SEQ ID NO: 13
重链-氨基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFASYKMHWVRQ APGQRLEWMGDIPAGTGNTHYSQKFQGRVTITRDTSASTAY MELSSLRSEDYAVYYCARDGGYYYSWDDWGQGLTVTS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 14
重链-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAA ACCGGGCGCGAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCGAGCG GCTATACCTTTGCGAGCTATAAAATGCATTGGGTGCGCCAG GCGCCGGGCCAGCGCCTGGAATGGATGGGCGATATTCCGG CGGGCACCGGCAACACCCATTATAGCCAGAAATTCAGGG CCGCGTGACCATTAACCCGCGATACCAGCGCGAGCACCGCG TATATGGAAGTGAAGCAGCTGCGCAGCGAAGATACCGCGG TGTATTATTGCGCGCGCGATCGCGGCGGCTATTATTATGATA GCTGGGATGATTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGA GCAGCGCGAGCACCAAAGGCCCCGAGCGTGTTCCTGCTGG CGCCGAGCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGCG CTGGGCTGCCTGGTGAAAGATTATTTCCGGAACCGGTGA	SEQ ID NO: 15

[0138]

	CCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCGCTGACCAGCGGCGTGCTGC ATACCTTTCCGGCGGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTATAG CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAGCCTGGG CACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAAACCGAGC AACACCAAAGTGATAAAAAAGCGGAACCGAAAAAGCTGC GATAAAACCCATACCTGCCCGCCGTGCCCGGCGCCGGAAG CGGCGGGCGGCCCGAGCGTGTTCCTGTTTCCGCCGAAACC GAAAGATACCCTGATGATTAGCCGCACCCCGGAAGTGACC TGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGAAGATCCGGAAGTG AAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAACG CGAAAAACAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAGCACCT ATCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATTG GCTGAACGGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAA AGCGCTGCCGGCGCCGATTGAAAAAACATTAGCAAAGC GAAAGGCCAGCCGCGCAACCGCAGGTGTATACCCTGCC GCCGAGCCGCGATGAACCTGACCAAAAAACAGGTGAGCCT GACCTGCCTGGTGAAAGGCTTTTATCCGAGCGATATTGCC GTGGAATGGGAAAGCAACGGCCAGCCGGAACAACTAT AAAACACCCCGCCGTGCTGGATAGCGATGGCAGCTTTT TTCTGTATAGCAAACTGACCGTGGATAAAAGCCGCTGGCA GCAGGGCAACGTGTTTAGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCG CTGCATAACCATATACCCAGAAAAGCCTGAGCCTGAGCC CGGGC	
	针对 TMIGD2 的 ScFv	
	VH-接头-VL-氨基酸序列 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWIRQ SPSRGLEWLGRITYYRSKWSDDYAVSVKSRMTINADTSKNQ FSLQLNSVTPEDTAVYYCARSGLDYGLDVWGKGTMTVTV SSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQSVLTQPPSVSGAPGQRT ISCTGSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNRPSGVP DRFSGSKSGTSGSLAITGLQAEDEADYYCQSYDSTLSGSVFG GGTKLTVLG	SEQ ID NO: 16
	VH-接头-VL-DNA 序列 cagggtgcagctgcagcagcggcccgccctgggtgaaaccgagccagacctgagcctg acctgcgcgattagcggcgatagcgtgagcagcaacagcgcgacctggaactggatcgc cagagcccagcgcggcctggaatggctgggcccacattattatgcagcaaatggagc gatgattatgcgtgagcgtgaaaagccgatgaccattaacgcggataccagcaaaac cagtttagcctgcagctgaacagcgtgaccccggaagataaccggtgtattatgcgcg cgacggcctggatttattatggcctggatgtgtggggcaaggcaccatgggtgacc gtgagcagcggcgcgcgcgagcgcgcggcgcgcgagcggcgcgcgcgcgagcggc ggcgcgcgagcagcagcgtgctgacccagccgcgagcgtgagcggcgcgcgcgcgcca ggcggtgaccattagctgcaccggcagcagcagcaacattggcgcgggctatgatgtgcattg g tatcagcagctgccgggcaccgcgcgaaactgctgattatggcaacaacaaccgcccg agcggcgtgcggatcgttttagcggcagcaaaagcggcaccagcggcagcctggcgatt accggcctgcagcgggaagatgaagcggattattatgccagagctatgatagcacccgtg agcggcagcgtgtttggcgcgcgccacaaactgaccgtgctgggc	SEQ ID NO: 17
	VH 结构域 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWIRQS PSRGLEWLGRITYYRSKWSDDYAVSVKSRMTINADTSKNQFS LQLNSVTPEDTAVYYCARSGLDYGLDVWGKGTMTVTVSS	SEQ ID NO: 18
	HCDR1 (IMGT) GDSVSSNSAT	SEQ ID NO: 19
	HCDR2 (IMGT) TYYRSKWS	SEQ ID NO: 20

[0139]

HCDR3 (IMGT) ARSGLDYGLDV	SEQ ID NO: 21
HCDR1 (Kabat) SNSATWN	SEQ ID NO: 22
HCDR2 (Kabat) RTYYRSKWSDDYAVSVKS	SEQ ID NO: 23
HCDR3 (Kabat) SGLDFDYGLDV	SEQ ID NO: 24
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GDSVSSNSATWN	SEQ ID NO: 25
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) RTYYRSKWSDDYAVSVKS	SEQ ID NO: 26
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) SGLDFDYGLDV	SEQ ID NO: 27
接头 GGGGSGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 28
VL 结构域 QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWHYQQL PGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSGSLAITGLQAE DEADYYCQSYDSTLSGSVFGGGTKLTVLG	SEQ ID NO: 29
LCDR1 (IMGT) SSNIGAGYD	SEQ ID NO: 30
LCDR2 (IMGT) GN	SEQ ID NO: 31
LCDR3 (IMGT) QSYDSTLSGSV	SEQ ID NO: 32
LCDR1 (Kabat) TGSSSNIGAGYDVH	SEQ ID NO: 33
LCDR3 (Kabat) QSYDSTLSGSV	SEQ ID NO: 34
LCDR3 (Kabat) QSYDSTLSGSV	SEQ ID NO: 35
LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) TGSSSNIGAGYDVH	SEQ ID NO: 36
LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) GNNNRPS	SEQ ID NO: 37
LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) QSYDSTLSGSV	SEQ ID NO: 38
轻链: 针对 HHLA2 的 IgG 结构域	
LCDR1 (IMGT) QSISSY	SEQ ID NO: 39

[0140]

	LCDR2 (IMGT) GA	SEQ ID NO: 40
	LCDR3 (IMGT) QQVPFEPPT	SEQ ID NO: 41
	LCDR1 (Kabat) RASQSISSYLN	SEQ ID NO: 42
	LCDR2 (Kabat) GASSLQS	SEQ ID NO: 43
	LCDR3 (Kabat) QQVPFEPPT	SEQ ID NO: 44
	LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) RASQSISSYLN	SEQ ID NO: 45
	LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) GASSLQS	SEQ ID NO: 46
	LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) QQVPFEPPT	SEQ ID NO: 47
	VL-氨基酸序列 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFATY YCQQVPFEPPTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 48
	VL-DNA 序列 GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATC TGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA GAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAGTT TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAAGTACCGTTTCG AGCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAA A	SEQ ID NO: 49
	轻链-氨基酸序列 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFATY YCQQVPFEPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNR GEC	SEQ ID NO: 50
	轻链-DNA 序列 GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATC TGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA GAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA GGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAGTT TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGCAAGTACCGTTTCG AGCCTCCTACTTTTGGCGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAA ACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCAT	SEQ ID NO: 51
[0141]	CTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG TGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGG AGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACA GCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACG AGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTACCCATCAGG GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG AGTGT	

[0144]

tggcagcagggaacgtgttagctgcagcgtgatgaagcgtgcataaccattat acccagaaaagcctgagcctgagccggggcgggcgggcgagcggcgggcgagcg gcggcgggcgagcggcgggcgggcgagccaggtgcagctgcagcagcggccgggct ggtgaaaccgagccagaccctgagcctgacctgcgcgattagcggcgatagcgtgagc agcaacagcgcggcgtggaactggattgccagagcccagccgcggcctggaatggctg ggccgcacctattatcgagcaaatggtataacgattatgcgggtgagcgtgaaaagccgc attaccattaaccgggataccagcaaaaaccagtttagcctgcagatgaacagcgtgacc ccggaagataccgcgatttatttgcgcgagcgatgtggtgctggaaagcagcagcagc cgccatttgcatttggggcaaaagccacctggtgacctgagcagcggcgggcgggcg agcggcgggcgggcgagcggcgggcgggcgagcggcgggcgagcggcgaaattgtgctgac ccagagcccgggcaccctgagcctgagccggggcggaacgcgcgacctgagctgccgc gcgagccagagcgtgagcagcagctatctggcgtggtatcagcagaaccgggcccagcgc ccgcgcctgctgatttattggcgcgagcagcgcgcgaccggcattccggtatcgtttgac ggcagcggcgagcggcaccgattttaccctgaccattagccgctggaaccggaagatttt gcggtgtattttgccagattatggcgggcagccgcgccgtttggccagggcaccaaa gtggaattaaacgc	
针对 HHLA2 的 IgG 结构域	
重链	
HCDR1 (IMGT) GYTFASYK	SEQ ID NO: 54
HCDR2 (IMGT) IPAGTGNT	SEQ ID NO: 55
HCDR3 (IMGT) ARDRGGYYYDSWDD	SEQ ID NO: 56
HCDR1 (Kabat) SYKMH	SEQ ID NO: 57
HCDR2 (Kabat) DIPAGTGNTTHYSQKFQG	SEQ ID NO: 58
HCDR3 (Kabat) DRGGYYYDSWDD	SEQ ID NO: 59
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GYTFASYKMH	SEQ ID NO: 60
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) DIPAGTGNTTHYSQKFQG	SEQ ID NO: 61
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) DRGGYYYDSWDD	SEQ ID NO: 62
VH-氨基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFASYKMHWVRQAP GQRLEWMGDIPAGTGNTTHYSQKFQGRVTITRDTSASTAYMELS SLRSEDTAVYYCARDRGYYYDSWDDWGQGLTVTVSS	SEQ ID NO: 63
VH-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACC	SEQ ID NO: 64

[0145]

	GGGCGCGAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTATA CCTTTGCGAGCTATAAAATGCATTGGGTGCGCCAGGCGCCGG GCCAGCGCCTGGAATGGATGGGCGATATTCGGCGGGCACCG GCAACACCCATTATAGCCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCA TTACCCGCGATACCAGCGCGAGCACCGCGTATATGGAAGTGA GCAGCCTGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGC GCGATCGCGGCGGCTATTATTATGATAGCTGGGATGATTGGGG CCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGC	
	重链-氨基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFASYKMHVVRQAP GQRLEWMDIPAGTGNTHYSQKFQGRVTITRDTSASTAYMELS SLRSEDTAVYYCARDRGYYYSWDDWGQGLVTVSSASTKG PSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSN TKV DKKVEPKSCDKTHTCPPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 65
	重链-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGGTGACAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACC GGGCGCGAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTATA CCTTTGCGAGCTATAAAATGCATTGGGTGCGCCAGGCGCCGG GCCAGCGCCTGGAATGGATGGGCGATATTCGGCGGGCACCG GCAACACCCATTATAGCCAGAAATTCAGGGCCGCGTGACCA TTACCCGCGATACCAGCGCGAGCACCGCGTATATGGAAGTGA GCAGCCTGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATTATTGCGCGC GCGATCGCGGCGGCTATTATTATGATAGCTGGGATGATTGGGG CCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGCGAGCACCAAAG GCCCAGCGTGTTTCCGCTGGCGCCGAGCAGCAAAAGCACC AGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGTGAAAGATTAT TTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCGCT GACCAGCGGCGTGACATACCTTTCCGGCGGTGCTGCAGAGCAG CGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGCTGACCGTGCCGAGCAG CAGCCTGGGCACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAA ACCGAGCAACACCAAAGTGGATAAAAAAGCGGAACCGAAA AGCTGCGATAAAACCCATACCTGCCCCCGGTGCCCGGCGCG GAAGCGGCGGGCGGCCCGAGCGTGTTTCTGTTTCCGCCGAA ACCGAAAAGATACCTGATGATTAGCCGCACCCCGGAAGTGAC CTGCGTGCTGGTGATGTGAGCCATGAAGATCCGGAAGTGAA ATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAACGCGAA AACCAAAACCGCGCAAGAACAGTATAACAGCACCTATCGCGT GGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGG CAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGCGCTGCCGG CGCCGATTGAAAAAACATTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCG CGCGAACCGCAGGTGTATACCTGCCGCCGAGCCGCGATGAA CTGACCAAAAACAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAAGG CTTTTATCCGAGCGATATTGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGG CCAGCCGGAAAAACAATAAAACCACCCCGCCGGTGCTGGA TAGCGATGGCAGCTTTTCTGTATAGCAAAGTACCGTGATG AAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTATGCTGCAGCGT GATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTTATACCCAGAAAAGCCT GAGCCTGAGCCCGGGC	SEQ ID NO: 66
	针对 TMIGD2 的 ScFv	

[0146]

VH-接头-VL-氨基酸序列 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPS RGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQM NSVTPEDTAIYYCASDVVLESSSRHFDYWGKGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQ SVSSSYLAWYQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTD FTLTISRLEPEDFAVYFCQHYGGSPRPFQGQTKVEIKR	SEQ ID NO: 67
VH-接头-VL-DNA 序列 caggtgcagctgcagcagagcgccggcctggtaaacgagccagacctgagcctg acctgcgcgattagcggcgatagcgtgagcagcaacagcgcgctggaactgattcgc cagagcccgagccggcctggaatggctggcgccacattatcgagcaaatggat aacgattatgcggtgagcgtgaaaagccgcatcaccataaccggataaccagcaaaac cagtttagcctgcagatgaacagcgtgaccccggaagataaccgcatttattatgcgcg agcgtatgtgtggaagcagcagcagccgcatgttattggtggcgaagcacc ctggtgacctgagcagcgccggcgcgagcgccggcgcgagcgccggcgcgca gcccggcgcgagcgaattgtgctgaccagagccggcgccctgagcctgagc ccggcgcaacgcgcgacctgagctgccgcgcgagcagcgtgagcagcagctatctg gcgtggtatcagcagaaaccggcgccgcccgcgctgctgattatggcgcgagcagc cgcgcgaccggcattccggtgctttagcggcagcgcgccgaccgatttaccctg accattagccgctggaaccggaagatttgcggtgtattttgccagcattatggcgcg agcccgcgccgttggccaggcgaccaaagtggaaattaaacgc	SEQ ID NO: 68
VH 结构域 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPS RGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQMN SVTPEDTAIYYCASDVVLESSSRHFDYWGKGTLVTVSS	SEQ ID NO: 69
HCDR1 (IMGT) GDSVSSNSAA	SEQ ID NO: 70
HCDR2 (IMGT) TYYRSKWYN	SEQ ID NO: 71
HCDR3 (IMGT) ASDVVLESSSRHFDY	SEQ ID NO: 72
HCDR1 (Kabat) SNSAAWN	SEQ ID NO: 73
HCDR2 (Kabat) RTYYRSKWYNDYAVSVKS	SEQ ID NO: 74
HCDR3 (Kabat) DVVLESSSRHFDY	SEQ ID NO: 75
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GDSVSSNSAAWN	SEQ ID NO: 76
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) RTYYRSKWYNDYAVSVKS	SEQ ID NO: 77
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) DVVLESSSRHFDY	SEQ ID NO: 78
接头 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 79
VL 结构域 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQKPGQA PRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCQ	SEQ ID NO: 80

[0147]

	HYGGSPRPFQGQTKVEIKR	
	LCDR1 (IMGT) QSVSSSY	SEQ ID NO: 81
	LCDR2 (IMGT) GA	SEQ ID NO: 82
	LCDR3 (IMGT) QHYGGSPRP	SEQ ID NO: 83
	LCDR1 (Kabat) RASQSVSSSYLA	SEQ ID NO: 84
	LCDR3 (Kabat) GASSRAT	SEQ ID NO: 85
	LCDR3 (Kabat) QHYGGSPRP	SEQ ID NO: 86
	LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) RASQSVSSSYLA	SEQ ID NO: 87
	LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) GASSRAT	SEQ ID NO: 88
	LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) QHYGGSPRP	SEQ ID NO: 89
	轻链：针对 HHLA2 的 IgG 结构域	
	LCDR1 (IMGT) QSISSY	SEQ ID NO: 90
	LCDR1 (IMGT) QSISSY	SEQ ID NO: 91
	LCDR2 (IMGT) GA	SEQ ID NO: 92
	LCDR3 (IMGT) QQVPFEPPT	SEQ ID NO: 93
	LCDR1 (Kabat) RASQSISSYLN	SEQ ID NO: 94
	LCDR2 (Kabat) GASSLQS	SEQ ID NO: 95
	LCDR3 (Kabat) QQVPFEPPT	SEQ ID NO: 96
	LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) RASQSISSYLN	SEQ ID NO: 97
	LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) GASSLQS	SEQ ID NO: 98

[0148]

	LCDR3 (Kabat/IMGT 组合)	SEQ ID NO: 99
	QQVPFEPPT	
	VL-氨基酸序列	SEQ ID NO: 100
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ VPFEPPTFGGGTKVEIK	
	VL-DNA 序列	SEQ ID NO: 101
	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCATTGCCGGGCAAGTCAGAGC ATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAA GCCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAGTTTGCAAAGTG GGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATT TCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGTCTAGCAAGTACCGTTTCGAGCCTCCTACTTTTGG CGGAGGGACCAAGGTTGAGATCAAA	
	轻链-氨基酸序列	SEQ ID NO: 102
	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQQKPGKAP KLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ VPFEPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTL TLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	

[0149] 表3. 示例性双特异性抗体分子及其抗原结合片段的氨基酸和核苷酸序列。

[0150]

克隆	序列	SEQ ID NO
TK74CB6	重链: 针对 HHLA2 的 IgG 结构域+接头+针对 TMIGD2 的 scFv	
	IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-氨基酸序列 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHAMFWVRQAPG KGLEWVSGISWSSNSIAYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKGSIVAGFWLGYFDLWGRGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWIRQSPS RGLEWLGRITYYRSKWSDDYAVSVKSRMTINADTSKNQFSLQL NSVTPEDTAVYYCARSGLDYGLDVWVGKGTMTVTVSSGGGS GGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNRPSGVPDRFSGSKSGTS GSLAITGLQAEDEADYYCQSYDSTLSGSVFGGGTKLTVLG	SEQ ID NO: 103
	IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-DNA 序列 gaagtcagctggtgaaagcggcggcggcctggtgcagccggccgcagcctgcgcctg agctgcgcggcgagcggcctttacctttgatgatcatgcatgttttgggtgcgccaggcg ccgggcaagcctggaatgggtgagcggcattagctggagcagcaacagcattgcgtat gcggatagcgtgaaagccgctttaccattagccgcgataacgcgaaaaacagcctgtat ctgcagatgaacagcctgcgcgcggaagataccgcggtgtattattgcgcgaaagcagc	SEQ ID NO: 104

[0151]

atttggcgggctttggctgggctattttgatctgtggggcgcggcaccctggtagc gtgagcagcgcgagcaccgagccgagcgtgttccgctggcgcgagcagcaaaagc accagcggcggcaccgcgctgggctgctgggtaagattttccggaaccgggtg accgtgagctggaacagcggcgcgtgaccagcggcgtgcatactttccggcgggtg cagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtagcctgccgagcagcagcctgggc accagacattatttgcaacgtgaaccataaacgagcaacaccaaagtggataaaaa gcgggaaccgaaaagctgcgataaaaccatactgcccgcgctggcggcgggaagcg gcggcgccggcggcagcgtgtttctgttccgcaaacgaaagataccctgatgattgc cgcaccccggaagtacgtgcgtgggtggatgtgagccatgaagatccggaagtga ttaactgtgtatggatggcgtggaagtgcataacgcgaaaccaaaccgcgcgaagaa cagtataacagcacctatgcgtgggtgagcgtgctgaccgtgcatcaggattggctg aacggcaaaagaataataatgcaagtgcgcaacaaagcgtccggcggcggattgaaaa accattagcaaaagcgaagggcagcgcgcgaaccgaggtgtataccctgcccgcgagc cgcgatgaactgacaaaaaccaggtgagcctgacctgctgtgaaaggcttttatccg agcgatattgcgtggaatgggaaagcaacggccagcgggaaacaactataaaaccacc ccggcgtgctggatagcgtgagcgtttttctgtatgcaaaactgaccgtgataaa agccgctggcagcagggcaacgtgttttagctgcagcgtgatgcatgaagcgtgcataac cattataccagaaaaagcctgagcctgagcccggcggcggcggcggcagcggcggcggc ggcagcggcggcggcggcagcggcggcggcggcggcagccaggtgcagctgcagcagcggc cgggctgtgtaaacgagccagaccctgagcctgacctgcgcgattagcggcgatagc gtgagcagcaacagcgcgacctggaactggattccagagcccagcggcggcctggaa tggctggcgccgacctattatcgcagcaaatggagcgtgattatgcggtgagcgtgaaa agccgcatgaccattaacgcggataccagcaaaacagtttagcctgcagctgaacagc gtgaccccggaagataaccggtgtattatgctgcgcgagcggcctggattttgattat ggcctggatgtgtgggcaaaagccacatggtgaccgtgagcagcggcggcggcggcagc ggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc agccgccgagcgtgagcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc gcaacattggcggcggcgtatgatgtgcatgtgatcagcagctgcccggcaccgcg ccgaaactgctgattatgcaacaacaaccgccgagcggcgtgcccggatcgttttagc ggcagcaaaagcggcaccagcggcagcctggcgattaccggcctgcagcgggaagatgaa gcggattattatgccaagctatgatagcacctgagcggcagcgtgtttggcggcggc accaaaactgaccgtgctgggc	
针对 HHLA2 的 IgG 结构域	
重链	
HCDR1 (IMGT) GFTFDDHA	SEQ ID NO: 105
HCDR2 (IMGT) ISWSSNSI	SEQ ID NO: 106
HCDR3 (IMGT) AKGSIVAGFWLGYFDL	SEQ ID NO: 107
HCDR1 (Kabat) DHAMF	SEQ ID NO: 108
HCDR2 (Kabat) GISWSSNSIAYADSVKG	SEQ ID NO: 109
HCDR3 (Kabat) GSIVAGFWLGYFDL	SEQ ID NO: 110
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GFTFDDHAMF	SEQ ID NO: 111

[0152]

HCDR2 (Kabat/IMGT 组合)	SEQ ID NO: 112
GISWSSNSIAYADSVKGG	
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合)	SEQ ID NO: 113
GSIVAGFWLGYFDL	
VH-氨基酸序列	SEQ ID NO: 114
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHAMFWVRQAPG KGLEWVSGISWSSNSIAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKGSIVAGFWLGYFDLWGRGTLTVSS	
VH-DNA 序列	SEQ ID NO: 115
GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCC GGGCCGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGCTTTA CCTTTGATGATCATGCGATGTTTTGGGTGCGCCAGGCGCCGG GCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCGGCATTAGCTGGAGCAGC AACAGCATTGCGTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACC ATTAGCCGCGATAACGCGAAAAACAGCCTGTATCTGCAGATG AACAGCCTGCGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCG AAAGGCAGCATTGTGGCGGGCTTTTGGCTGGGCTATTTTGAT CTGTGGGGCCGCGCACCTGGTGACCGTGAGCAGC	
重链-氨基酸序列	SEQ ID NO: 116
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHAMFWVRQAPG KGLEWVSGISWSSNSIAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKGSIVAGFWLGYFDLWGRGTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKAEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	
重链-DNA 序列	SEQ ID NO: 117
GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAGCC GGGCCGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGCTTTA CCTTTGATGATCATGCGATGTTTTGGGTGCGCCAGGCGCCGG GCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCGGCATTAGCTGGAGCAGC AACAGCATTGCGTATGCGGATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACC ATTAGCCGCGATAACGCGAAAAACAGCCTGTATCTGCAGATG AACAGCCTGCGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCG AAAGGCAGCATTGTGGCGGGCTTTTGGCTGGGCTATTTTGAT CTGTGGGGCCGCGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGCGAG CACCAAAGGCCCGAGCGTGTTTCCGCTGGCGCCGAGCAGCA AAAGCACCAGCGGCGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGTG AAAGATTATTTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACAGC GGCGCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGCGCGGTGCTG CAGAGCAGCGGCTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTG CCGAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTATATTTGCAACGTG AACCATAAACCGAGCAACACCAAAGTGGATAAAAAAGCGGA ACCGAAAAGCTGCGATAAAACCCATACCTGCCCGCCGTGCC GGCGCCGGAAGCGGCGGGCGGCCCGAGCGTGTTTCTGTTC CGCCGAAACCGAAAGATACCTGATGATTAGCCGCACCCCGG AAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGAAGATCCGG AAGTGAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATA	

[0153]

ACGCGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAGCACC TATCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATTGG CTGAACGGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGC GCTGCCGCGCGCGATTGAAAAAACCATAGCAAAGCGAAAG GCCAGCCGCGCGAACCGCAGGTGTATACCTGCCGCGCGAGCC GCGATGAAC TGACCAAAAACAGGTGAGCCTGACCTGCCTG GTGAAAAGGCTTTTATCCGAGCGATATTGCGGTGGAATGGGAA AGCAACGGCCAGCCGGAACAACATAAAACCACCCCGCC GGTGCTGGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATAGCAAAC TG ACCGTGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTAG CTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTTATACCCAG AAAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGC	
针对 TMIGD2 的 ScFv	
VH-接头-VL-氨基酸序列 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWIRQSPS RGLEWLGRITYYRSKWSDDYAVSVKSRMTINADTSKNQFSLQL NSVTPEDTAVYYCARSGLDYGLDVWGKGTMTVTVSSGGGGG GGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTS GSLAITGLQAEDEADYYCQSYDSTLSGSVFGGGTKLTVLG	SEQ ID NO: 118
VH-接头-VL-DNA 序列 caggtgcagctgcagcagagcgcccgggcctggtgaaaccgagccagacctgagcctg acctgcgcgattagcggcgatagcgtgagcagcaacagcgacctggaactggattcgc cagagcccgagcccgccctggaatggctggcgccgacattatcgcagcaaatggagc gatgattatgcggtgagcgtgaaaagccgatgaccattaacgggataccagcaaaac cagtttagcctgcagctgaacagcgtgaccccggaagataccgcggtgtattatgcgcg cgagcgccctggtatttattatggcctggatgtgtggggcaaaagccacatggtgacc gtgagcagcgggcgccggcgagcggcgccggcgagcggcgccggcgagcggcgccggcg ggcgccagccagagcgtgctgaccagcccgagcgtgagcggcgccggcgccagcgcgt gaccattagctgcaccggcagcagcaacattggcgccggcctatgatgtcattgg taccagcagctgccggccaccgcccgaactgctgattatggcaacaacaaccgccc agcggcggtgccggtatcgttagcggcagcaaaagcgccagcggcgagcgtgagcgt accggcctgcagcggaagatgaagcgggattattgccagagctatgatgaccctg agcggcagcgtgttggcgccgaccaaactgaccgtgctgggc	SEQ ID NO: 119
VH 结构域 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWIRQSPS RGLEWLGRITYYRSKWSDDYAVSVKSRMTINADTSKNQFSLQL NSVTPEDTAVYYCARSGLDYGLDVWGKGTMTVTVSS	SEQ ID NO: 120
HCDR1 (IMGT) GDSVSSNSAT	SEQ ID NO: 121
HCDR2 (IMGT) TYYRSKWS	SEQ ID NO: 122
HCDR3 (IMGT) ARSGLDYGLDV	SEQ ID NO: 123
HCDR1 (Kabat) SNSATWN	SEQ ID NO: 124
HCDR2 (Kabat) RTYYRSKWSDDYAVSVKS	SEQ ID NO: 125
HCDR3 (Kabat) SGLDYGLDV	SEQ ID NO: 126

[0154]

HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GDSVSSNSATWN	SEQ ID NO: 127
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) RTYYRSKWSDDYAVSVKS	SEQ ID NO: 128
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) SGLDFDYGLDV	SEQ ID NO: 129
接头 GGGSGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 130
VL 结构域 QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGT APKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGTSGSLAITGLQAEDEADY YCQSYDSTLSGSVFSGGGTKLTVLG	SEQ ID NO: 131
LCDR1 (IMGT) SSNIGAGYD	SEQ ID NO: 132
LCDR2 (IMGT) GN	SEQ ID NO: 133
LCDR3 (IMGT) QSYDSTLSGSV	SEQ ID NO: 134
LCDR1 (Kabat) TGSSSNIGAGYDVH	SEQ ID NO: 135
LCDR3 (Kabat) GNNNRPS	SEQ ID NO: 136
LCDR3 (Kabat) QSYDSTLSGSV	SEQ ID NO: 137
LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) TGSSSNIGAGYDVH	SEQ ID NO: 138
LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) GNNNRPS	SEQ ID NO: 139
LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) QSYDSTLSGSV	SEQ ID NO: 140
轻链：针对 HHLA2 的 IgG 结构域	
LCDR1 (IMGT) QSVSSY	SEQ ID NO: 141
LCDR2 (IMGT) DA	SEQ ID NO: 142
LCDR3 (IMGT) QQVSGNPLWT	SEQ ID NO: 143
LCDR1 (Kabat) RASQSVSSYLA	SEQ ID NO: 144
LCDR2 (Kabat) DASNRAT	SEQ ID NO: 145

[0155]

LCDR3 (Kabat)	SEQ ID NO: 146
QQVSGNPLWT	
LCDR1 (Kabat/IMGT 组合)	SEQ ID NO: 147
RASQSVSSYLA	
LCDR2 (Kabat/IMGT 组合)	SEQ ID NO: 148
DASNRAT	
LCDR3 (Kabat/IMGT 组合)	SEQ ID NO: 149
QQVSGNPLWT	
VL-氨基酸序列	SEQ ID NO: 150
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQV SGNPLWTFGGGTKVEIK	
VL-DNA 序列	SEQ ID NO: 151
GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCCTGAGCCTGAG CCCGGGCGAACGCGCGACCCCTGAGCTGCCGCGCGAGCCAGA GCGTGAGCAGCTATCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACCGGGCC AGGCGCCGCGCCTGCTGATTATGATGCGAGCAACCGCGCGA CCGGCATTCGGCGCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACC GATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCGGAAGATTTTG CGGTGTATTATTGCCAGCAGGTGAGCGGCAACCCGCTGTGGA CCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGGAATTAATAA	
轻链-氨基酸序列	SEQ ID NO: 152
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQV SGNPLWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSST LTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
轻链-DNA 序列	SEQ ID NO: 153
GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCCTGAGCCTGAG CCCGGGCGAACGCGCGACCCCTGAGCTGCCGCGCGAGCCAGA GCGTGAGCAGCTATCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACCGGGCC AGGCGCCGCGCCTGCTGATTATGATGCGAGCAACCGCGCGA CCGGCATTCGGCGCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACC GATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACCGGAAGATTTTG CGGTGTATTATTGCCAGCAGGTGAGCGGCAACCCGCTGTGGA CCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGGAATTAATAACGCACCGTG GCGGCGCCGAGCGTGTATTATTTTCCGCCGAGCGATGAACAG CTGAAAAGCGGCACCGCGAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAA CTTTTATCCGCGCGAAGCGAAAGTGCAGTGGAAGTGGAATAA CGCGCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGTGACCGAAC AGGATAGCAAAGATAGCACCTATAGCCTGAGCAGCACCCCTGA CCCTGAGCAAAGCGGATTATGAAAAACATAAAGTGTATGCGT GCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGAGCAGCCCGGTGACCAAA AGCTTTAACCGCGGCGAATGC	

[0156] 表4. 示例性双特异性抗体分子及其抗原结合片段的氨基酸和核苷酸序列。

克隆	序列	SEQ ID NO
TK74CB11 3	重链: 针对 HHLA2 的 IgG 结构域+接头+针对 TMIGD2 的 scFv IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-氨基酸序列 EVQLVESGGGLVQPGRSRLRLSCAASGFTFDDHAMFWVRQA PGKGLEWVSGISWSSNSIAYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVVYCAKGSIVAGFWLGYFDLWGRGTLTVTS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGSPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKDTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCA ISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDY AVSVKSRITINPDTSKNQFSLQMNSVTPEDTAIYYCASDVVL ESSSRHFIDYWGKGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGG SEIVLTQSPGTLLSLPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YFCQHYGGSPRPFQGTQVEIKR IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-DNA 序列 gaagtgcagctgtgtggaagcggcggcgccctgtgtcagccggcgagcctgtgcctg agctgcgcggcgagcggccttacccttgatgatcatgcgatgttttggtgtgccaggcg ccgggcgaaggcctggaatgggtgagcggcattagctgagcagcaacagcattgctgat cgcggatgcgtgaaagcccgcttaccattagccgcgataacgcgaaaaacagcctgtat ctgcagatgaacagcctgcgcgcgggaagataccgggtgtattattgcgcgaaggcagc attgtgctggcgtttgtgctgggctatttgcctgtgtggggccgcgcacccgtgtgacc gtgagcagcgcgagcaccaaggcccgagcgtgttccctgtgcccgcgcgagcagcaaaagc accagcggcggcaccgcggcgctgggctgcctgtgtaagattatttccggaaccgggtg accgtgagctggaaacagcggcgctgaccagcggcgatcacttccggcgagcgtgctg cagagcagcggcctgtatagcctgagcagcgtggtgaccgtgcccagcagcagcctgggc accagacattatttgcacgtgaaccataaaccgagcaacaccaaaagtgtataaaaaa gcggaaaccgaaaagctgcgataaaaccataacctgcccgccgtcccgcgcgcggaagcg gcggggcgcccgagcgtgttctgtttccggcgaaccgaaagataacctgatgattagc cgcaccccggaagtgcacctgcgtgtgtgtggtgattgtgagccatgaagatccggaaagttaa tttaactggtatgtggtgctgtggaagtgcataacgcgaaaccaaaccgcgcgcaagaa cagtataacagcacctatcgcgtgtgtgagcgtgctgaccgtgctgcatcaggattggtg aacgcgaagaataataatgcaaaagtgcagcaacaaggcgtgcgcggcgccgattgaaaaa accattagcaaaagcgaaggccagcgcgcgaacgcaggtgtataacctgccgcgcgagc cgcgatgaactgacaaaaaccaggtgagcctgacctgctgtgtaaaaggctttattccg agcgtatttgcgttggaatgggaagcaacggccagcgcgaaacataataaaaccacc ccgcgtgtcgtgatacgatggcgagctttttctgtatagcaaacgtgaccgtggataaa agccgctggtgcagcagggcaacgtgtttagctgcagcgtgatgatgaagcgtgcataac cattataccagaaaagcctgagcctgagcccgggcgcgcgcgcgagcggcgcgcgccg ggcagcggcgccggcgccagcggcgcgcgcgcgagccagctgacagctgcagcagagcg gcccgggctggtgaaaccgagccagacctgagcctgacctgcgcgattagcggcgatagc gtgacagcaaacagcgcggcgtggaactggattccgagagcccgagccggcgctggaa tggctggggccacattatcgcagcaaatgtataacgattatgcggtgagcgtgaa agccgcatattacattaaccggataccagcaaaaaccgatttagcctgcagatgaacagc gtgaccgcggaagataccgcgattattattgcgcgagcgtatgtgtgctgtaaaagcagc agcagcgcgcattttgattattggggcaaggcacccctggtgaccgtgagcagcggcggc ggcggcagcggcgggcgggcgagcggcgcgcgcgagccgagcggcgagcggcgagcggc attgtgctgacccagagccggcgacccctgagcctgagccggcggaacgcgcgacccctga gc tgccgcgcgagccagcagcgtgagcagcagctatctggcgtgtgtatcagcaaaaccgggc caggcgccgcgcctgctgattatgcgcgcgagcagccgcgcgacccgcatccggatgcg tttagcggcagcggcagcggcaccgattttaccctgaccattagccgctfgaacccgga gattttgcggtgtatttttgcagcattatggcgagcccgccgcgccctgttgcgcagggc	SEQ ID NO: 154 SEQ ID NO: 155

[0157]

[0158]

accaaagtggaaattaaacgc	
针对 HHLA2 的 IgG 结构域	
重链	
HCDR1 (IMGT) GFTFDDHA	SEQ ID NO: 156
HCDR2 (IMGT) ISWSSNSI	SEQ ID NO: 157
HCDR3 (IMGT) AKGSIVAGFWLGYFDL	SEQ ID NO: 158
HCDR1 (Kabat) DHAMF	SEQ ID NO: 159
HCDR2 (Kabat) GISWSSNSIAYADSVKG	SEQ ID NO: 160
HCDR3 (Kabat) GSIVAGFWLGYFDL	SEQ ID NO: 161
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GFTFDDHAMF	SEQ ID NO: 162
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) GISWSSNSIAYADSVKG	SEQ ID NO: 163
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) GSIVAGFWLGYFDL	SEQ ID NO: 164
VH-氨基酸序列 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHAMFWVRQAP GKGLEWVSGISWSSNSIAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKGSIVAGFWLGYFDLWGRGTLTVSS	SEQ ID NO: 165
VH-DNA 序列 GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAG CCGGGCCGCGAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGC TTTACCTTTGATGATCATGCGATGTTTTGGGTGCGCCAGGC GCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCGGCATTAGCTGG AGCAGCAACAGCATTGCGTATGCGGATAGCGTGAAAGGCC GCTTTACCATTAGCCGCGATAACGCGAAAAACAGCCTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCGGAAGATACCGCGGTGT ATTATTGCGCGAAAGGCAGCATTGTGGCGGGCTTTTGGCTG GGCTATTTTGATCTGTGGGGCCGCGGCACCCTGGTGACCGT GAGCAGC	SEQ ID NO: 166
重链-氨基酸序列 EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDHAMFWVRQAP GKGLEWVSGISWSSNSIAYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKGSIVAGFWLGYFDLWGRGTLTVSSA	SEQ ID NO: 167

[0159]

	STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
	重链-DNA 序列 GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCTGGTGCAG CCGGGCCGAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAGCGGC TTTACCTTTGATGATCATGCGATGTTTTGGGTGCGCCAGGC GCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCGGCATTAGCTGG AGCAGCAACAGCATTGCGTATGCGGATAGCGTGAAAGGCC GCTTACCATTAGCCGCGATAACGCGAAAAACAGCCTGTAT CTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCGGAAGATACCGCGGTGT ATTATTGCGCGAAAGGCAGCATTGTGGCGGGCTTTTGGCTG GGCTATTTTATCTGTGGGGCCGCGGCACCTGGTGACCGT GAGCAGCGCGAGCACCAAAGGCCCGAGCGTGTTCGCT GGCGCCGAGCAGCAAAAGCACCAGCGGCGGCACCGCGGC GCTGGGCTGCCTGGTGAAAGATTATTTTCCGGAACCGGTG ACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCGCTGACCAGCGGCGTG CATACCTTTCCGCGGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTATAG CCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCGAGCAGCAGCCTGGG CACCCAGACCTATATTTGCAACGTGAACCATAAACCGAGC AACACCAAAGTGGATAAAAAAGCGGAACCGAAAAAGCTGC GATAAAACCCATACCTGCCCCGCGTGCCCGGCGCCGGAAG CGGCGGGCGGCCCCGAGCGTGTTCGTTCGCGCGAAACC GAAAGATAACCTGATGATTAGCCGACCCCGGAAGTGACC TGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGAAGATCCGGAAGTGA AATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATAACGCG AAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAGCACCTATC GCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATTGGCT GAACGGCAAAGAATATAAATGCAAAGTGAGCAACAAAGC GCTGCCGGCGCCGATTGAAAAAACCATAGCAAAGCGAAA GGCCAGCCGCGCGAACCAGCAGGTGTATACCTGCCGCGGA GCCGCGATGAACTGACCAAAAACAGGTGAGCCTGACCT GCCTGGTGAAAGGCTTTATCCGAGCGATATTGCGGTGGAA TGGGAAAGCAACGGCCAGCCGGAACAACTATAAAACC ACCCGCGCGGTGCTGGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTA TAGCAAACCTGACCGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGG CAACGTGTTTAGCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCAT AACCATTATACCCAGAAAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGC	SEQ ID NO: 168
	针对 TMIGD2 的 ScFv	
	VH-接头-VL-氨基酸序列 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQS PSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFS LQMNSTVPEDTAIYYCASDVVLESSSRHFDYWGKGLTVTV SSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERAT LSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCQHYGGSPRPFQGQTKV EIKR	SEQ ID NO: 169
	VH-接头-VL-DNA 序列 caggtgcagctgcagcagagcgcccgccgctggtgaaaccgagccagacctgagcctg acctgcgcgattagcggcgatagcgtgagcagcaacagcgccgctggaactggattcgc cagagcccgagcccgccgctggaatggctggccgcacctattatcgagcaaatggtat aacgattatcggtgagcgtgaaaagccgattaccattaacccggataccagcaaaaac cagtttagcctgcagatgaacagcgtgaccccggaagataccgcgattattattgcgcg	SEQ ID NO: 170

[0160]

agcgatgtggtgctggaagcagcagcagccgcatTTgattattggggcaaaggcacc ctggtgacctgagcagcggcgccggcgagcggcgggcgagcggcgggcgccg gcagcggcgccggcgccgagcgaattgtgctgacctagagcccgggaccctgagcctgag c ccggcggaacgcgcgaccctgagctccgcgcgagccagagcgtgagcagcagctatctg gcgtggtatcagcagaaccggcgccggcgccgctgctgattatggcgcgagcagc cgcgcgaccggcattccggatcgtttagcgcgagcggcgagcggcaccgattttacctg accattagcccgctggaaccggaagattttgcggtgtattttgccagcattatggcggc agcccgcgccgtttggccaggcgaccaaagtggaaattaaacgc	
VH 结构域 QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQS PSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL QMNSVTPEDTAIYYCASDVVLESSSRHFDYWGKGLTVTVS S	SEQ ID NO: 171
HCDR1 (IMGT) GDSVSSNSAA	SEQ ID NO: 172
HCDR2 (IMGT) TYYRSKWYN	SEQ ID NO: 173
HCDR3 (IMGT) ASDVVLESSSRHFDY	SEQ ID NO: 174
HCDR1 (Kabat) SNSAAWN	SEQ ID NO: 175
HCDR2 (Kabat) RTYYRSKWYNDYAVSVKS	SEQ ID NO: 176
HCDR3 (Kabat) DVVLESSSRHFDY	SEQ ID NO: 177
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GDSVSSNSAAWN	SEQ ID NO: 178
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) RTYYRSKWYNDYAVSVKS	SEQ ID NO: 179
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) DVVLESSSRHFDY	SEQ ID NO: 180
接头 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 181
VL 结构域 EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YFCQHYGGSPRPFQGQTKVEIKR	SEQ ID NO: 182
LCDR1 (IMGT) QSVSSSY	SEQ ID NO: 183
LCDR2 (IMGT) GA	SEQ ID NO: 184
LCDR3 (IMGT) QHYGGSPRP	SEQ ID NO: 185

[0161]

	LCDR1 (Kabat) RASQSVSSSYLA	SEQ ID NO: 186
	LCDR2 (Kabat) GASSRAT	SEQ ID NO: 187
	LCDR3 (Kabat) QHYGGSPRP	SEQ ID NO: 188
	LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) RASQSVSSSYLA	SEQ ID NO: 189
	LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) GASSRAT	SEQ ID NO: 190
	LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) QHYGGSPRP	SEQ ID NO: 191
	轻链: 针对 HHLA2 的 IgG 结构域	
	LCDR1 (IMGT) QSVSSY	SEQ ID NO: 192
	LCDR2 (IMGT) DA	SEQ ID NO: 193
	LCDR3 (IMGT) QQVSGNPLWT	SEQ ID NO: 194
	LCDR1 (Kabat) RASQSVSSSYLA	SEQ ID NO: 195
	LCDR2 (Kabat) DASNRAT	SEQ ID NO: 196
	LCDR3 (Kabat) QQVSGNPLWT	SEQ ID NO: 197
	LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) RASQSVSSSYLA	SEQ ID NO: 198
	LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) DASNRAT	SEQ ID NO: 199
	LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) QQVSGNPLWT	SEQ ID NO: 200
	VL-氨基酸序列 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLPEPDAVYY CQQVSGNPLWTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 201
	VL-DNA 序列 GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCCCTGAGCCTGA GCCCCGGCGAACGCGCGACCCCTGAGCTGCCGCGCGAGCC AGAGCGTGAGCAGCTATCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACC GGGCCAGGCGCGCGCCTGCTGATTATGATGCGAGCAAC	SEQ ID NO: 202

[0162]

	CGCGCGACCGGCATTCCGGCGCGCTTTAGCGGCAGCGGCA GCGGCACCGAATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACC GGAAGATTTTGCAGGTGATTATTGCCAGCAGGTGAGCGGC AACCCGCTGTGGACCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGGA ATTA	
	轻链-氨基酸序列 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQA PRLIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYY CQQVSGNPLWTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC	SEQ ID NO: 203
	轻链-DNA 序列 GAAATTGTGCTGACCCAGAGCCCGGCGACCTGAGCCTGA GCCCCGGGCGAACGCGCGACCTGAGCTGCCGCGCGAGCC AGAGCGTGAGCAGCTATCTGGCGTGGTATCAGCAGAAACC GGGCCAGGCGCGCGCTGCTGATTATGATGCGAGCAAC CGCGCGACCGGCATTCCGGCGCGCTTTAGCGGCAGCGGCA GCGGCACCGAATTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGGAACC GGAAGATTTTGCAGGTGATTATTGCCAGCAGGTGAGCGGC AACCCGCTGTGGACCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGGA ATTAACGCACCGTGGCGGCGCCGAGCGTGTTATTTTCC GCCGAGCGATGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCGAGCGT GGTGTGCCTGCTGAACAACCTTTATCCGCGCGAAGCGAAA GTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCGCTGCAGAGCGGCAAC AGCCAGGAAAGCGTGACCGAACAGGATAGCAAAGATAGC ACCTATAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAAGCGG ATTATGAAAAACATAAAGTGTATGCGTGCGAAGTGACCCAT CAGGGCCTGAGCAGCCCGGTGACCAAAGCTTTAACCGC GGCGAATGC	SEQ ID NO: 204

[0163] 表5. 示例性双特异性抗体分子及其抗原结合片段的氨基酸和核苷酸序列。

[0164]

克隆	序列	SEQ ID NO
TK20-39C9 -2134	重链: 针对 CD20 (利妥昔单抗) 的 IgG 结构域(重链)+接头+针对 TMIGD2 的 scFv IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-接头-ScFv 结构域-氨基酸序列 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTY YGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY	SEQ ID NO: 205

[0165]

	SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLQES GPGLVKPSQTLSTCTVTGYISDFAWNWL RQHP GKGLEWIGYINYAGSSSYNPSHKSRVTISRDTSKN QFFLKLSSVTAADTAVYYCARSNYRND DAMDSW GQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQL TQSPSFLSASVGDRTITCKASQDVGTA VAWYQQ KPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQFSGFPWTFGGGTKVEIK	
	IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCGGGCGCGGAACTGGTGA AACCGGGCGCGAGCGTGAAAATGAGCTGCAAAGCGAG CGGCTATACCTTTACCAGCTATAACATGCATTGGGTGAA ACAGACCCCGGGCCGCGGCCTGGAATGGATTGGCGCG ATTTATCCGGGCAACGGCGATACCAGCTATAACCAGAAA TTAAAGGCAAAGCGACCCCTGACCGCGGATAAAAGCA GCAGCACCGCGTATATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGC GAAGATAGCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCAGCACCTAT TATGGCGGCGATTGGTATTTTAACGTGTGGGGCGCGGG CACCACCGTGACCGTGAGCGCGGCGAGCACC AAAGGC CCGAGCGTGTTTCCGCTGGCGCCGAGCAGCAAAAGCA CCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGTGAA AGATTATTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACA GCGGCGCGCTGACCAGCGGCGTGACATACCTTTCCGGCG GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGT GGTGACCGTGCCGAGCAGCAGCCTGGGCAACCGAGACC TATATTGCAACGTGAACCATAAACCGAGCAACACCAA AGTGGATAAAAAAGCGGAACCGAAAAGCTGCGATAAA ACCCATACCTGCCCCCGCTGCCCCGGCGCCGGAAGCGGC GGGCGGCCCGAGCGTGTTTCTGTTTCCGCCGAAACCGA AAGATACCCTGATGATTAGCCGCACCCCGGAAGTGACC TGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGAAGATCCGGAAGT GAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATA ACGCGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAG CACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATC AGGATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAATGCAAAGTG AGCAACAAAGCGCTGCCGGCGCCGATTGAAAAAACCA TTAGCAAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACC GCAGGT GTATACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAACTGACCAAAA ACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAAGGCTTTTAT CCGAGCGATATTGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGGCC AGCCGGAACAACATAAAACCACCCCGCCGGTGCT GGATAGCGATGGCAGCTTTTTTCTGTATAGCAAACTGAC CGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTA GCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATA CCCAGAAAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGGCGGCGG CGGCAGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG CGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG GGCCCGGGCCTGGTGAAACCGAGCCAGACCCTGAGCC TGACCTGCACCGTGACCGGCTATAGCATTACCAGCGATT TTGCGTGGAACCTGGCTGCGCCAGCATCCGGGCAAAGG CCTGGAATGGATTGGCTATATTAACCTATGCGGGCAGCAG CAGCTATAACCCGAGCCATAAAAGCCGCGTGACCATTA GCCGCGATACCAGCAAAAACAGTTTTTCTGAAACTG AGCAGCGTGACCGCGGCGGATACCGCGGTGTATTATTG CGCGCGCAGCAACTATCGCAACGATGATGCGATGGATA	SEQ ID NO: 206

[0166]

GCTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGCGG CGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGG CGGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGATATTCAGCTGACC CAGAGCCCCAGCTTTCTGAGCGCGAGCGTGGGCGATC GCGTGACCATTACCTGCAAAGCGAGCCAGGATGTGGGC ACCGCGGTGGCGTGGTATCAGCAGAAACCGGGCAAAG CGCCGAAACTGCTGATTATTGGGCGAGCACCCGCCAT ACCGGCGTGCCGAGCCGCTTTAGCGGCAGCGGCAGCG GCACCGATTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCG GAAGATTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAGTTTAGCGGC TTTCCGTGGACCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGAAAT TAAA	
针对 CD20 的 IgG 结构域	
重链-氨基酸序列 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWV KQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSS STAYMQLSSLSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAG TTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGFSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 207
轻链-氨基酸序列 QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFFQKPGS SPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDA ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 208
针对 TMIGD2 的 ScFv	
VH-接头-VL-氨基酸序列 QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSDFAW NWLRLQHPGKGLEWIGYINYAGSSSYNPSHKSRVTI SRDTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYCARSNYRND DAMDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSDIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCKASQDVGT AVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFSGFPWTFGG GTKVEIK	SEQ ID NO: 209
VH-接头-VL-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCCGGGCCTGGTGA AACCGAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACCGTGAC CGGCTATAGCATTACCAGCGATTTTGCCTGGAACCTGGCT GCGCCAGCATCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGATTGGCT ATATTAACCTATGCGGGCAGCAGCAGCTATAACCCGAGCC ATAAAAGCCGCGTGACCATTAGCCGCGATACCAGCAAA AACCAGTTTTTTCTGAAACTGAGCAGCGTGACCGCGGC GGATACCGCGGTGATTATTGCGCGCGCAGCAACTATCG	SEQ ID NO: 210

[0167]

CAACGATGATGCGATGGATAGCTGGGGCCAGGGCACCA CCGTGACCGTGAGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGGCGG CGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGG CAGCGATATTCAGCTGACCCAGAGCCCGAGCTTCTGA GCGCGAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCAAA GCGAGCCAGGATGTGGGCACCGCGGTGGCGTGGTATC AGCAGAAACCGGGCAAAGCGCCGAACTGCTGATTTA TTGGGCGAGCACCCGCCATACCGGCGTGCCGAGCCGCT TTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACC ATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATTTTGCACCTATTAT TGCCAGCAGTTTAGCGGCTTTCCTGGACCTTTGGCGG CGGCACCAAAGTGGAAATTA	
VH 结构域 QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVTGYSITSDFAWNWLRQ HPGKGLEWIGYINYAGSSSYNPSHKSRTISRDTSKNQFF LKLSSVTAADTAVYYCARSNYRNDDAMDSWGQGTITVTV SS	SEQ ID NO: 211
HCDR1 (IMGT) GYSITSDFA	SEQ ID NO: 212
HCDR2 (IMGT) INYAGSS	SEQ ID NO: 213
HCDR3 (IMGT) ARSNYRNDDAMDS	SEQ ID NO: 214
HCDR1 (Kabat) SDFAWN	SEQ ID NO: 215
HCDR2 (Kabat) YINYAGSSSYNPSHKS	SEQ ID NO: 216
HCDR3 (Kabat) SNYRNDDAMDS	SEQ ID NO: 217
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GYSITSDFAWN	SEQ ID NO: 218
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) YINYAGSSSYNPSHKS	SEQ ID NO: 219
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) SNYRNDDAMDS	SEQ ID NO: 220
接头 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 221
VL 结构域 DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCKASQDVGTAVAW YQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQFSGFPWTFGGGTKV EIK	SEQ ID NO: 222

[0168]

LCDR1 (IMGT) QDVGTA	SEQ ID NO: 223
LCDR2 (IMGT) WA	SEQ ID NO: 224
LCDR3 (IMGT) QQFSGFPWT	SEQ ID NO: 225
LCDR1 (Kabat) KASQDVGTAVA	SEQ ID NO: 226
LCDR2 (Kabat) WASTRHT	SEQ ID NO: 227
LCDR3 (Kabat) QQFSGFPWT	SEQ ID NO: 228
LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) KASQDVGTAVA	SEQ ID NO: 229
LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) WASTRHT	SEQ ID NO: 230
LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) QQFSGFPWT	SEQ ID NO: 231
轻链: 针对 CD20 的 IgG 结构域	
轻链-氨基酸序列 QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQ QKPGSSPKPWYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSL TISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLST LTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC	SEQ ID NO: 232
轻链-DNA 序列 CAGATTGTGCTGAGCCAGAGCCCGGCGATTCTG AGCGCGAGCCCGGGCGAAAAAGTGACCATGAC CTGCCGCGCGAGCAGCAGCGTGAGCTATATTCA TTGGTTTCAGCAGAAACCGGGCAGCAGCCCGA AACCGTGGATTTATGCGACCAGCAACCTGGCGA GCGGCGTGCCGGTGCGCTTTAGCGGCAGCGGCA GCGGCACCAGCTATAGCCTGACCATTAGCCGCG TGGAAGCGGAAGATGCGGCGACCTATTATTGCC AGCAGTGGACCAGCAACCCGCCGACCTTTGGCG GCGGCACCAAACTGGAAATTAACGCACCGTGG CGGCGCCGAGCGTGTTTATTTTCCGCCGAGCGA TGAACAGCTGAAAAGCGGCACCGCGAGCGTGG TGTGCCTGCTGAACAACCTTTATCCGCGCGAAG CGAAAGTGCAGTGGAAAGTGGATAACGCGCTG CAGAGCGCAACAGCCAGGAAAGCGTGACCGA ACAGGATAGCAAAGATAGCACCTATAGCCTGAG	SEQ ID NO: 233

[0169]

	CAGCACCTGACCCTGAGCAAAGCGGATTATGA AAAACATAAAGTGATGCGTGCGAAGTGACCCA TCAGGGCCTGAGCAGCCCGGTGACCAAAAAGCTT TAACCGCGGCGAATGC	
TK20-17C7-01	重链: 针对 CD20 (利妥昔单抗) 的 IgG 结构域(重链)+接头+针对 TMIGD2 的 scFv	
	IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-接头-ScFv 结构域-氨基酸序列 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTY YGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQS GAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQAP GGLEWMGWIYPGEGSTNYNEKFKGRVTITADK STSTAYMELSSLRSEDYAVYYCARRGLRYYFDYW GQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQ MTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRNYLNWYQ QKPGKVPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDF LTISLQPEDVATYYCQQVNTLPWTFGGGTKEIK	SEQ ID NO: 234
	IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCGGGCGCGAACTGGTGA AACCGGGCGCGAGCGTGAAAATGAGCTGCAAAGCGAG CGGCTATACCTTTACCAGCTATAACATGCATTGGGTGAA ACAGACCCCGGGCCGCGGCCTGGAATGGATTGGCGCG ATTTATCCGGGCAACGGCGATACCAGCTATAACCAGAAA TTAAAGGCAAAGCGACCCTGACCGCGGATAAAAGCA GCAGCACCGCGTATATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGC GAAGATAGCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCAGCACCTAT TATGGCGGCGATTGGTATTTAACGTGTGGGGCGCGGG CACCACCGTGACCGTGAGCGCGGCGAGCACCAGGCGC CCGAGCGTGTTCGCTGGCGCCGAGCAGCAAAAGCA CCAGCGGCGGCACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGTGAA AGATTATTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACA GCGGCGCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGGCG GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGT GGTGACCGTGCCGAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACC TATATTTGCAACGTGAACCATAAACCGAGCAACACCAA AGTGGATAAAAAAGCGGAACCGAAAAGCTGCGATAAA ACCCATACCTGCCCCCGGTGCCCCGCGCCGGAAGCGGC GGGCGGCCCGAGCGTGTTCGTTTCCGCCGAAACCGA AAGATACCTGATGATTAGCCGACCCCGGAAGTGACC TGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGAAGATCCGGAAGT	SEQ ID NO: 235

[0170]

	GAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATA ACGCGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAG CACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATC AGGATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAATGCAAAGTG AGCAACAAAGCGCTGCCGGCGCCGATTGAAAAAACCA TTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACCAGGT GTATACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAACTGACCAAAA ACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTAAAAGGCTTTTAT CCGAGCGATATTGCGGTGGAATGGGAAAAGCAACGGCC AGCCGGAACAACATAAAAACCAACCCCGCGGTGCT GGATAGCGATGGCAGCTTTTTCTGTATAGCAAAGTAC CGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTA GCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATA CCCAGAAAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGGCGGCGG CGGCAGCGGCGGCGGCGGCGAGCGGCGGCGGCGGCGAG CGGCGGCGGCGGCGGCGAGCCAGGTGCAGCTGGTGCAGAGC GGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAA GTGAGCTGCAAAGCGAGCGGCTATACCTTTACCAGCTA TGATATTAAGTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGCCAGGGCC TGGAATGGATGGGCTGGATTATCCGGGCGAAGGCAGC ACCAACTATAACGAAAAATTTAAAGGCCGCGTGACCAT TACCGCGGATAAAAGCACCAGCACCAGCGTATATGGAAC TGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATAACCGCGGTGTATTAT TGCGCGCGCCGCGGCTGCGCTATTATTTGATTATTGG GGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGAGCAGCGGCGGCG GCGGCAGCGGCGGCGGCGGCGAGCGGCGGCGGCGGCGCA GCGGCGGCGGCGGCGGCGAGCAGATATTCAGATGACCCAGAG CCCAGCAGCCTGAGCGCGAGCGTGCGGCGATCGCGTG ACCATTACCTGCCGCGCGAGCCAGGATATTCGCAACTAT CTGAACTGGTATCAGCAGAAACCGGGCAAAGTGCCGA AACTGCTGATTTATTATACAGCCGCTGCATAGCGGCG TGCCGAGCCGCTTAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGA TTTTACCCTGACCATTAGCAGCCTGCAGCCGGAAGATG TGGCGACCTATTATTGCCAGCAGGTGAACACCCTGCCG TGGACCTTTGGCGGCGGCGACCAAAGTGGAATTTAAA	
	针对 CD20 的 IgG 结构域	
	重链-氨基酸序列 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWV KQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSS STAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAG TTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 236
	轻链-氨基酸序列 QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFFQKPGS SPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGTSYSLTISRVEAEDA ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ	SEQ ID NO: 237

[0171]

LKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	
针对 TMIGD2 的 ScFv	
重链	
VH-接头-VL-氨基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYDI NWVRQAPGQGLEWMGWIYPGEGSTNYNEKFKG RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGL RYYFDYWQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRN YLNWYQQKPKGVPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQVNTLPWTFGG GTKVEIK	SEQ ID NO: 238
VH-接头-VL-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAA AACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTGAGCTGCAAAGCGAG CGGCTATACCTTTACCAGCTATGATATTAAGTGGGTGCG CCAGCGCGCGGGCCAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGG ATTTATCCGGGCGAAGGCAGCACCAACTATAACGAAAA ATTTAAAGGCCGCGTGACCATTACCGCGGATAAAAGCA CCAGCACCGCGTATATGGAAGTGCAGCAGCCTGCGCAGC GAAGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCCGCGGCCT GCGCTATTATTTGATTATTGGGGCCAGGGCACCACCGT GACCGTGAGCAGCGCGCGCGGCAGCGCGCGCGGC GGCAGCGCGCGCGCGGCAGCGCGCGCGCGGCAGC GATATTCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGCCTGAGCGC GAGCGTGGGCGATCGCGTGACCATTACCTGCCGCGCGA GCCAGGATATTCGCAACTATCTGAACTGGTATCAGCAG AAACCGGGCAAAGTGCCGAAAGTCTGATTATTATAC CAGCCGCCTGCATAGCGCGGTGCCGAGCCGCTTTAGCG GCAGCGGCAGCGGCACCGATTTTACCCTGACCATTAGC AGCCTGCAGCCGGAAGATGTGGCGACCTATTATTGCCA GCAGGTGAACACCCTGCCGTGGACCTTTGGCGGCGGC ACCAAAGTGGAATTTAAA	SEQ ID NO: 239
VH 结构域 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYDINWVR QAPGQGLEWMGWIYPGEGSTNYNEKFKGRVTITADKSTS TAYMELSSLRSEDVAVYYCARRGLRYYFDYWQGTTVT VSS	SEQ ID NO: 240
HCDR1 (IMGT) GYTFTSYD	SEQ ID NO: 241
HCDR2 (IMGT) IYPGEGST	SEQ ID NO: 242
HCDR3 (IMGT) ARRGLRYYFDY	SEQ ID NO: 243

[0172]

HCDR1 (Kabat) SYDIN	SEQ ID NO: 244
HCDR2 (Kabat) WIYPGEGSTNYNEKFKG	SEQ ID NO: 245
HCDR3 (Kabat) RGLRYYFDY	SEQ ID NO: 246
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GYTFTSYDIN	SEQ ID NO: 247
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) WIYPGEGSTNYNEKFKG	SEQ ID NO: 248
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) RGLRYYFDY	SEQ ID NO: 249
接头 GGGGSGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 250
VL 结构域 DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDIRNYLNWYQQKP GKVPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DVATYYCQQVNTLPWTFGGGTKVEIK	SEQ ID NO: 251
LCDR1 (IMGT) QDIRNY	SEQ ID NO: 252
LCDR2 (IMGT) YT	SEQ ID NO: 253
LCDR3 (IMGT) QQVNTLPWT	SEQ ID NO: 254
LCDR1 (Kabat) RASQDIRNYLN	SEQ ID NO: 255
LCDR2 (Kabat) YTSRLHS	SEQ ID NO: 256
LCDR3 (Kabat) QQVNTLPWT	SEQ ID NO: 257
LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) RASQDIRNYLN	SEQ ID NO: 258
LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) YTSRLHS	SEQ ID NO: 259
LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) QQVNTLPWT	SEQ ID NO: 260
轻链: 针对 CD20 的 IgG 结构域	
轻链-氨基酸序列 QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPG SSPKPWYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAED	SEQ ID NO: 261

[0173]

	AATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNREGC 轻链-DNA 序列 CAGATTGTGCTGAGCCAGAGCCCGGCGATTCTGAGCGC GAGCCCGGGCGAAAAAGTGACCATGACCTGCCGCGCG AGCAGCAGCGTGAGCTATATTCATTGGTTTCAGCAGAA ACCGGGCAGCAGCCCGAAACCGTGGATTATGCGACCA GCAACCTGGCGAGCGGCGTGCCGGTGCGCTTTAGCGG CAGCGGCAGCGGCACCAGCTATAGCCTGACCATTAGCC GCGTGGAAGCGGAAGATGCGGCGACCTATTATTGCCAG CAGTGGAACAGCAACCCGCCGACCTTTGGCGGCGGCA CCAAACTGGAAATTAACGCACCGTGGCGGCGCCGAG CGTGTTTATTTTCCGCCGAGCGATGAACAGCTGAAAA GCGGCACCGCGAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACCTT TATCCGCGCGAAGCGAAAGTGCAGTGGAAGTGGATA ACGCGCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGTGAC CGAACAGGATAGCAAAGATAGCACCTATAGCCTGAGCA GCACCCTGACCCTGAGCAAAGCGGATTATGAAAAACAT AAAGTGTATGCGTGCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGAG CAGCCCGGTGACCAAAAGCTTTAACCGCGGCGAATGC	SEQ ID NO: 262
TK20-29F8 -16	重链: 针对 CD20 (利妥昔单抗) 的 IgG 结构域(重链)+接头+针对 TMIGD2 的 scFv IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-接头-ScFv 结构域-氨基酸序列 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYN MHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKG KATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTY YGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESG GGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSSISQGGGTYSPTSVKGRFTISRDNKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGADYYGTSWFGN WGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDI VMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSGQSLVHSNANTY LHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSG SGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPWTFGG GTKVEIK IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCGGGCGCGAACTGGTGA AACCGGGCGCGAGCGTGAAAATGAGCTGCAAAGCGAG	SEQ ID NO: 263
	IgG 结构域-接头-ScFv 结构域-DNA 序列 CAGGTGCAGCTGCAGCAGCCGGGCGCGAACTGGTGA AACCGGGCGCGAGCGTGAAAATGAGCTGCAAAGCGAG	SEQ ID NO: 264

[0174]

CGGCTATACCTTTACCAGCTATAACATGCATTGGGTGAA
 ACAGACCCCGGGCCGCGGCCTGGAATGGATTGGCGCG
 ATTTATCCGGGCAACGGCGATACCAGCTATAACCAGAAA
 TTTAAAGGCAAAAGCGACCCTGACCGCGGATAAAAGCA
 GCAGCACCGCGTATATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGC
 GAAGATAGCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCAGCACCTAT
 TATGGCGGCGATTGGTATTTTAACGTGTGGGGCGCGGG
 CACCACCGTGACCGTGAGCGCGGCGAGCACCAAAGGC
 CCGAGCGTGTTCCTGCTGGCGCGCGAGCAGCAAAAGCA
 CCAGCGGCGGCGACCGCGGCGCTGGGCTGCCTGGTGAA
 AGATTATTTTCCGGAACCGGTGACCGTGAGCTGGAACA
 GCGGCGCGCTGACCAGCGGCGTGCATACCTTTCCGGCG
 GTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTATAGCCTGAGCAGCGT
 GGTGACCGTGCCGAGCAGCAGCCTGGGCACCCAGACC
 TATATTTGCAACGTGAACCATAAACCGAGCAACACCAA
 AGTGGATAAAAAAGCGGAACCGAAAAGCTGCGATAAA
 ACCCATACCTGCCCGCCGTGCCCGGCGCCGGAAGCGGC
 GGGCGGCCCCGAGCGTGTCTGTTCCTGCTTCCGCCGAAACCGA
 AAGATACCTGATGATTAGCCGCACCCCGAAAGTGACC
 TGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCATGAAGATCCGGAAGT
 GAAATTTAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAAGTGCATA
 ACGCGAAAACCAAACCGCGCGAAGAACAGTATAACAG
 CACCTATCGCGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATC
 AGGATTGGCTGAACGGCAAAGAATATAAATGCAAAGTG
 AGCAACAAAGCGCTGCCGGCGCCGATTGAAAAAACCA
 TTAGCAAAGCGAAAGGCCAGCCGCGCGAACCAGAGGT
 GTATACCCTGCCGCCGAGCCGCGATGAACTGACCAAAA
 ACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTGAAGGCTTTTAT
 CCGAGCGATATTGCGGTGGAATGGGAAAGCAACGGCC
 AGCCGGAAAAACAATAAAACCACCCCGCGGTGCT
 GGATAGCGATGGCAGCTTTTCTGTATAGCAAAGTAC
 CGTGGATAAAAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTA
 GCTGCAGCGTGATGCATGAAGCGCTGCATAACCATTATA
 CCCAGAAAAGCCTGAGCCTGAGCCCGGGCGGCGGCGG
 CGGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGCGAG
 CGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 GGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 TGAGCTGCGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 GCGATGAGCTGGGTGCGCCAGGCGCCGGGCAAAGGCC
 TGGAATGGGTGAGCAGCATTAGCCAGGGCGGCGGCGC
 CTATAGCCCGGATAGCGTGAAAGGCCGCTTTACCATTAG
 CCGCGATAACGCGAAAAACAGCCTGTATCTGCAGATGA
 ACAGCCTGCGCGCGGAAGATACCGCGGTGTATTATTGC
 GCGCGCGGCGCGGATTATTATGGCACCAGCTGGTTTGG
 CAACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGC
 GGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 GGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 CCCAGAGCCCGCTGAGCCTGCCGGTGACCCCGGGCGA
 ACCGGCGAGCATTAGCTGCCGCGAGCGGCCAGAGCCTG
 GTGCATAGCAACGCGAACACCTATCTGCATTGGTATCTG
 CAGAAACCGGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATTATAA
 AGTGAGCAACCGCTTTAGCGGCGTGCCGGATCGCTTTA
 GCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGG
 AGCCGCGTGGAAGCGGAAGATGTGGGCGGTGTATTATTG
 CAGCCAGAGCACCCATGTGCCGTGGACCTTTGGCGGCG
 GCACCAAAGTGGAATTA

[0175]

针对 CD20 的 IgG 结构域	
重链-氨基酸序列 QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWV KQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSS STAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAG TTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	SEQ ID NO: 265
轻链-氨基酸序列 QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFFQKPGS SPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEADA ATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 266
针对 TMIGD2 的 ScFv	
重链	
VH-接头-VL-氨基酸序列 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSSISQGGGTYSPPSVKGRFTISRDNANKSL YLQMNSLRAEDTAVYYCARGADYYGTSWFGNWGQGT VTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSQSLVHSNANTYLHWYLVKPGQSPQLLIY KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCS QSTHVPWTFGGGKVEIK	SEQ ID NO: 267
VH-接头-VL-DNA 序列 GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGA AACCGGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCGGCGAG CGGCTTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGTGC GCCAGGCGCCGGGCAAAGGCCTGGAATGGGTGAGCAG CATTAGCCAGGGCGGCGGCACCTATAGCCCGGATAGCG TGAAAGGCCGCTTTACCATTAGCCGCGATAACGCGAAA AACAGCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGCGCGCGGA AGATACCGCGGTGTATTATTGCGCGCGCGGCGCGGATTA TTATGGCACCAGCTGGTTTGGCAACTGGGGCCAGGGCA CCCTGGTGACCGTGAGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGG CGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGG CGGCAGCGATATTGTGATGACCCAGAGCCCGCTGAGCC TGCCGGTGACCCCGGGCGAACCAGGCGAGCATTAGCTG CCGCAGCGGCCAGAGCCTGGTGCATAGCAACGCGAAC ACCTATCTGCATTGGTATCTGCAGAAACCGGGCCAGAG CCCGAGCTGCTGATTTATAAAGTGAGCAACCGCTTTA GCGGCGTGCCGGATCGCTTTAGCGGCAGCGGCGAGCGG	SEQ ID NO: 268

[0176]

CACCGATTTTACCCTGAAAATTAGCCGCGTGGAAGCGG AAGATGTGGGCGTGTATTATTGCAGCCAGAGCACCCAT GTGCCGTGGACCTTTGGCGGCGGCACCAAAGTGGA TTAAA	
VH 结构域 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSSISQGGGTYSPTSVKGRFTISRDNKNSLY LQMNSLRAEDTAVYYCARGADYYGTSWFGNWGQGLV TVSS	SEQ ID NO: 269
HCDR1 (IMGT) GFTFSSYA	SEQ ID NO: 270
HCDR2 (IMGT) ISQGGGT	SEQ ID NO: 271
HCDR3 (IMGT) ARGADYYGTSWFGN	SEQ ID NO: 272
HCDR1 (Kabat) SYAMS	SEQ ID NO: 273
HCDR2 (Kabat) SISQGGGTYSPTSVKG	SEQ ID NO: 274
HCDR3 (Kabat) GADYYGTSWFGN	SEQ ID NO: 275
HCDR1 (Kabat/IMGT 组合) GFTFSSYAMS	SEQ ID NO: 276
HCDR2 (Kabat/IMGT 组合) ISQGGGTYSPTSVKG	SEQ ID NO: 277
HCDR3 (Kabat/IMGT 组合) GADYYGTSWFGN	SEQ ID NO: 278
接头 GGGSGGGSGGGSGGGGS	SEQ ID NO: 279
VL 结构域 DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSGQSLVHSNANT YLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNNRFSQVPSDFSGS GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPWTFG GGTKVEIK	SEQ ID NO: 280
LCDR1 (IMGT) QSLVHSNANTY	SEQ ID NO: 281
LCDR2 (IMGT) KV	SEQ ID NO: 282
LCDR3 (IMGT) SQSTHVPWT	SEQ ID NO: 283
LCDR1 (Kabat) RSGQSLVHSNANTYLH	SEQ ID NO: 284

[0177]

LCDR2 (Kabat) KVSNRFS	SEQ ID NO: 285
LCDR3 (Kabat) SQSTHVPWT	SEQ ID NO: 286
LCDR1 (Kabat/IMGT 组合) RSGQSLVHSNANTY	SEQ ID NO: 287
LCDR2 (Kabat/IMGT 组合) KVSNRFS	SEQ ID NO: 288
LCDR3 (Kabat/IMGT 组合) SQSTHVPWT	SEQ ID NO: 289
轻链：针对 CD20 的 IgG 结构域	
轻链-氨基酸序列 QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPG SSPKPWYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAED AATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSD EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNREGC	SEQ ID NO: 290
轻链-DNA 序列 CAGATTGTGCTGAGCCAGAGCCCGGCGATTCTGAGCGC GAGCCCGGGCGAAAAAGTGACCATGACCTGCCGCGCG AGCAGCAGCGTGAGCTATATTCATTGGTTTCAGCAGAA ACCGGGCAGCAGCCGAAACCGTGGATTATGCGACCA GCAACCTGGCGAGCGGCGTGCCGGTGCCTTTAGCGG CAGCGGCAGCGGCACCAGCTATAGCCTGACCATTAGCC GCGTGGAAGCGGAAGATGCGGCGACCTATTATTGCCAG CAGTGGACCAGCAACCCGCCGACCTTTGGCGGCGGCA CCAAACTGGAAATTAAACGCACCGTGGCGGCGCCGAG CGTGTTTATTTTCCGCCGAGCGATGAACAGCTGAAAA GCGGCACCGCGAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTT TATCCGCGCGAAGCGAAAGTGCAGTGGAAGTGGATA ACGCGCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAAAGCGTGAC CGAACAGGATAGCAAAGATAGCACCTATAGCCTGAGCA GCACCCTGACCCTGAGCAAAGCGGATTATGAAAAACAT AAAGTGATGCGTGCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGAG CAGCCCGGTGACCAAAAGCTTTAACCGCGGCGAATGC	SEQ ID NO: 291

[0178] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体分子或其抗原结合片段可以来自任何类别(包括但不限于IgG、IgA、IgM、IgD和IgE)的抗体以及来自任何亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)的抗体。本文所述的抗体分子或其抗原结合片段可以为或包括人、人源化、经CDR接枝或体外产生的抗体。本文所述的抗体分子或其抗原结合片段可以具有或包含选自例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区。本文所述的抗体分子或其抗原结合片段可以具有或包含选自例如κ或λ的轻链。

[0179] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体分子或其抗原结合片段可以为或包括单克隆抗体。在一些实施方案中,针对特定表位的单克隆抗体来源于单个细胞系(例如,B细胞系)。

[0180] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体分子或其抗原结合片段为或包括多克隆抗体。与单克隆抗体相反,多克隆抗体通常从异质的抗体群体中获得,使得特定群体中的抗体包含结构变型,例如对特定靶标(例如,TMIGD2或本

文所述的TAA)上的不同表位具有亲和力的结构变型。产生多克隆抗体的若干方法是已知的,并且包括例如将相关抗原多次皮下和/或腹膜内注射至动物体内,任选地包括共施用一种或多种佐剂。

[0181] 许多多特异性抗体构建体是本领域已知的,并且本文提供的双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以以任何合适的多特异性构建体的形式提供。在一些实施方案中,本文提供的双特异性抗体分子或其抗原结合片段是多特异性抗体分子或其抗原结合片段。在一些实施方案中,本文所述的多特异性抗体分子或其抗原结合片段结合多于一种抗原,例如,至少两种抗原、至少三种抗原、至少四种抗原或至少五种抗原。在一些实施方案中,本文所述的多特异性抗体分子或其抗原结合片段结合TMIGD2上的多于一个表位,例如,TMIGD2上的至少两个或至少三个表位。在一些实施方案中,本文所述的多特异性抗体分子或其抗原结合片段结合本文所述的TAA(例如,HHLA2)上的多于一个表位,例如,本文所述的TAA(例如,HHLA2)上的至少两个或至少三个表位。在一些实施方案中,本文所述的多特异性抗体分子或其抗原结合片段结合两个或更多个TAA。

[0182] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以包括或为第一抗体或其片段,该第一抗体或其片段附接至第二抗体的重链或轻链的N-末端或C-末端(参见,例如,Coloma和Morrison,Nature Biotechnol.,1997,15:159-163;该文献以引用的方式整体并入)。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包括或为四价双特异性抗体分子。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包括或为附接至全长抗体(例如,IgG)的重链的C-末端的scFv。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包括或为包含至少两个不同的重链可变区和至少两个不同的轻链可变区的杂交免疫球蛋白(参见,例如,Milstein和Cuello,Nature,1983,305:537-540;以及Staerz和Bevan,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1986,83:1453-1457;这些文献中的每一篇以引用的方式整体并入)。

[0183] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包括或为具有用于减少不具有多特异性的副产物的形成的改变的一个或多个免疫球蛋白链。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含一个或多个“钮入孔”修饰(参见,例如,美国专利5,731,168;该专利据此以引用的方式整体并入)。

[0184] 在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包括或为两个半抗体,该两个半抗体包括第一半抗体和第二半抗体,该第一半抗体具有针对第一表位的结合特异性,该第二半抗体具有针对第二表位的结合特异性。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包括或为两个scFv,该两个scFv包括第一scFv和第二scFv,该第一scFv具有针对第一表位的结合特异性,该第二scFv具有针对第二表位的结合特异性。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包括或为双特异性单链分子(参见,例如,Traunecker等人,EMBO J.,1991,10:3655-3659;以及Gruber等人,J.Immunol.,1994,152:5368-5374;这些文献中的每一篇以引用的方式整体并入)。

[0185] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以包含接头,该接头连接第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域。在一些实施方案中,接头的长度包括或为至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、

35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100个或更多个氨基酸。通常,接头的特征在于其倾向于不采用刚性的三维结构,而是为多肽(例如,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段)提供柔性。可以基于赋予本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的特定性质(例如,聚集减少和/或稳定性增加)在该双特异性抗体分子或其抗原结合片段中使用接头。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含一个或多个 G_4S 接头。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含一个或多个 $(G_4S)_n$ 接头,其中 n 为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更大。在某些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含一个或多个 $(G_4S)_2$ 接头。在某些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含一个或多个 $(G_4S)_3$ 接头。在某些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含一个或多个 $(G_4S)_4$ 接头。

[0186] 制备方法

[0187] 除其他外,本公开提供了制备本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的方法。在一些实施方案中,使用展示技术(诸如酵母展示、噬菌体展示或核糖体展示)来鉴定本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,使用杂交瘤文库(例如,哺乳动物杂交瘤文库,例如,小鼠杂交瘤文库)来鉴定本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体或其抗原结合片段,随后进行上清液筛选。

[0188] 用于产生抗体分子的组合方法是本领域已知的(例如如Ladner等人,美国专利5,223,409;Kang等人,国际公布W0 92/18619;Dower等人,国际公布W0 91/17271;Winter等人,国际公布W0 92/20791;Markland等人,国际公布W0 92/15679;Breitling等人,国际公布W0 93/01288;McCafferty等人,国际公布W0 92/01047;Garrard等人,国际公布W0 92/09690;Ladner等人,国际公布W0 90/02809;Fuchs等人,(1991)Bio/Technology 9:1370-1372;Hay等人,(1992)Hum Antibody Hybridomas 3:81-85;Huse等人,(1989)Science246:1275-1281;Griffiths等人,(1993)EMBO J 12:725-734;Hawkins等人,(1992)J Mol Biol 226:889-896;Clackson等人,(1991)Nature352:624-628;Gram等人,(1992)PNAS 89:3576-3580;Garrard等人,(1991)Bio/Technology 9:1373-1377;Hoogenboom等人,(1991)Nuc Acid Res 19:4133-4137;和Barbas等人,(1991)PNAS 88:7978-7982中所述,这些文献中的每一篇据此以引用的方式整体并入)。

[0189] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体或其抗原结合片段可以来源于其他物种。人源化抗体是通过重组DNA技术产生的抗体,其中非抗原结合所需的人免疫球蛋白轻链或重链的一些或全部氨基酸(例如,恒定区和/或可变结构域的框架区)被用于取代来自同源非人抗体的轻链或重链的相应氨基酸。举例来说,针对给定抗原的鼠抗体的人源化型式在重链和轻链上具有:(1)人抗体的恒定区;(2)来自人抗体的可变结构域的FR;以及(3)来自鼠抗体的CDR。人FR可基于其与小鼠FR序列的最高序列同源性进行选择。当必要时,可以将人FR中的一个或多个残基改变为鼠抗体中对应位置处的残基,以保留人源化抗体对靶标的结合亲和力。这种变化有时称为“回复突变”。类似地,出于期望的原因,例如稳定性或对靶标的亲和性,可以使正向突变回复成鼠序列。与嵌合人抗体相比,人源化抗体通常不太可能在人中引发免疫反应,因为人源化抗体含有的非人组分要少得多。

[0190] 用于使非人抗体人源化的方法是本领域熟知的。根据本公开的用于制备人源化抗体的合适方法在以下文献中有所描述：例如，Winter EP 0 239 400；Jones等人，Nature 321:522-525 (1986)；Riechmann等人，Nature 332:323-327 (1988)；Verhoeyen等人，Science 239:1534-1536 (1988)；Queen等人，Proc.Nat.Acad.ScL USA86:10029 (1989)；美国专利6,180,370；和Orlandi等人，Proc.Natl.Acad.Sd.USA 86:3833 (1989)；这些文献中每一篇的公开内容以引用方式整体并入本文。通常，将非人（例如，鼠）CDR移植到人抗体上如下实现。将编码VH和VL的cDNA从杂交瘤中分离，并且通过测序确定编码包含CDR的VH和VL的核酸序列。将编码CDR的核酸序列插入到人抗体VH或VL编码序列的相应区域中，并附接到期望的同种型的人恒定区基因区段（例如，对于CH为 $\gamma 1$ ，对于CL为 κ ）。使人源化重链和轻链基因在哺乳动物宿主细胞（例如，CHO或NS0细胞）中共表达以产生可溶性人源化抗体。为了促进抗体的大规模产生，通常期望使用例如生产品系（producer line）中的DHFR基因或GS基因来选择高表达子。

[0191] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体分子或其抗原结合片段可以为或包括人抗体分子或其抗原结合片段。全人抗体对于人受试者的治疗性治疗可能是特别理想的。人抗体可通过本领域已知的多种方法制备，包括使用来源于人免疫球蛋白序列的抗体文库的上述噬菌体展示方法（参见例如美国专利4,444,887和4,716,111；以及PCT公布WO 98/46645、WO 98/60433、WO 98/24893、WO 98/16664、WO 96/34096、WO 96/33735和WO 91/10741；该文献各自全文以引用方式并入本文）。例如Cole等人，Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R.Riss, (1985)和Boerner等人，J.Immunol., 147 (1):86-95, (1991)中的技术可用于制备人单克隆抗体，这些文献中的每一篇以引用方式整体并入本文。

[0192] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的抗体分子或其抗原结合片段可以为或包括嵌合抗体分子或其抗原结合片段。制备嵌合抗体的示例性方法在例如美国专利4,816,567；和Morrison等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 1984, 81:6851-6855中有所描述；这些文献中的每一篇以引用的方式整体并入。在一些实施方案中，嵌合抗体通过使用重组技术将非人可变区（例如，来源于小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物（诸如猴）的可变区）与人恒定区组合来制备。

[0193] 任何合适的方法都可以被用于将变异性引入到编码本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的一个或多个多核苷酸序列中，该方法包括易错PCR、链改组和寡核苷酸定向诱变（诸如三核苷酸定向诱变（TRIM））。在一些实施方案中，若干CDR残基（例如，一次4-6个残基）被随机分配。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性地鉴定参与抗原结合的CDR残基。尤其是CDR-H3和CDR-L3常常是突变的靶标。可以将多样性引入到可变区和/或CDR中以产生二级文库。然后对二级文库进行筛选以鉴定具有改善的亲合力的抗体变体。通过构建二级文库并从二级文库中重新选择来进行的亲和力成熟已经例如在Hoogenboom等人，Methods in Molecular Biology, 2001, 178:1-37中有所描述，该文献以引用的方式整体并入。

[0194] 核酸

[0195] 除其他外，本公开提供了编码本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的核酸。本公开包括编码本文公开的一个或多个重链、VH结构域、重链FR、重链CDR、重链恒定

结构域、轻链、VL结构域、轻链FR、轻链CDR、轻链恒定结构域或其他免疫球蛋白样序列、抗体,或其抗原结合片段的核酸。此类核酸可以存在于载体中。此类核酸可以存在于细胞的基因组中,该细胞例如需要治疗的受试者的细胞或者用于产生抗体分子或其抗原结合片段的细胞(例如,用于产生本文所述的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段的哺乳动物细胞)。

[0196] 可以将编码本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的核酸修饰成包含针对在特定细胞类型或生物体中的表达被优化的密码子。经密码子优化的序列是合成序列,并且优选地编码由经非密码子优化的亲本多核苷酸编码的同一多肽(或与由经非密码子优化的亲本多核苷酸编码的全长多肽具有基本上相同的活性的全长多肽的生物活性片段)。在一些实施方案中,编码本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的核酸的编码区(全部或一部分)可以包含用于优化特定细胞类型(例如,真核细胞或原核细胞)的密码子使用的经改变的序列。例如,如本文所述的人源化重链(或轻链)可变区的编码序列可针对在细菌细胞中的表达被优化。可替代地,该编码序列可以针对在哺乳动物细胞(例如,CHO细胞)中的表达被优化。这样的序列可被描述为经密码子优化的序列。

[0197] 本公开的核酸构建体可以通过本领域已知的方法被插入到表达载体中,并且核酸可以可操作地连接至表达控制序列。如本文所用,术语“可操作地连接”是指例如调控序列和异源性核酸序列之间的使异源性核酸序列得以表达的功能性连接。例如,当第一核酸序列与第二核酸序列处于功能关系中时,第一核酸序列与第二核酸序列可操作地连接。例如,如果启动子影响编码序列的转录或表达,则启动子可操作地连接到编码序列。通常,可操作地连接的DNA序列是连续的,并且在需要连接两个蛋白质编码区时,位于同一读码框中。

[0198] 本公开进一步提供了包含本文所述的任何核酸或其片段的载体。本文所述的任何核酸或其片段可被克隆到任何合适的载体中,并且可用于转化或转染任何合适的宿主。载体的选择和用于构建它们的方法通常是本领域普通技术人员已知的(参见例如,“Recombinant DNA Part D,”Methods in Enzymology,第153卷,Wu和Grossman编,Academic Press(1987))。

[0199] 常规使用的技术包括例如电泳、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染或脂质转染,可用于将外源核酸(例如,DNA或RNA)引入原核或真核宿主细胞中。理想情况下,视情况而定并考虑载体是DNA还是RNA,载体可以包含对要引入载体的宿主类型(例如,细菌、真菌、植物或动物)具有特异性的诸如转录和/或翻译起始和/或终止密码子的调控序列。在一些实施方案中,载体包含对宿主细胞的属具有特异性的调控序列。在一些实施方案中,载体包含对宿主的物种具有特异性的调控序列。

[0200] 除了复制系统和插入的核酸之外,核酸构建体还可以包含一个或多个标记基因,其允许选择转化或转染的宿主。示例性标记基因包括例如杀生物剂抗性(例如,对抗生素或重金属的抗性)或营养缺陷型宿主中的互补以提供原养型。

[0201] 表达载体可以包含可操作地连接至如上所述的经分离的或经纯化的核酸的原生或非原生启动子。启动子例如强启动子、弱启动子、诱导型启动子、组织特异性启动子和/或发育特异性启动子的选择在本领域技术人员的技术范围内。类似地,将如上所述的核酸与启动子组合也在本领域技术人员的技术范围内。

[0202] 合适的载体包括被设计用于增殖和扩增和/或表达的那些载体。例如,克隆载体可

以选自pUC系列、pBluescript系列(Stratagene, LaJolla, Calif.)、pET系列(Novagen, Madison, Wis.)、pGEX系列(Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)或pEX系列(Clontech, Palo Alto, Calif.)。可以使用噬菌体载体, 诸如 λ GT10、 λ GT11、 λ ZapII(Stratagene)、 λ EMBL4和 λ NM1149。可使用的植物表达载体的实例包括pBI110、pBI101.2、pBI101.3、pBI121或pBIN19(Clontech)。可使用的动物表达载体的实例包括pEUK-C1、pMAM或pMAMneo(Clontech)。TOP0克隆系统(Invitrogen, Carlsbad, Calif.)也可根据制造商的建议使用。

[0203] 可以将附加序列添加至此类克隆和/或表达序列中, 以优化它们在克隆和/或表达中的功能, 从而帮助分离编码本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的核酸, 或改善核酸向细胞的引入。克隆载体、表达载体、衔接子和接头的使用是本领域熟知的(参见例如, Sambrook等人, *Molecular Cloning, a Laboratory Manual*, 第2版, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); 以及Ausubel等人, *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing Associates和John Wiley&Sons, New York, N.Y. (1994), 该文献各自据此以引用方式整体并入)。

[0204] 在一些实施方案中, 本文所述的核酸和载体是经分离的和/或经纯化的。经分离的核酸和载体可以使用本领域已知的标准技术来制备, 该标准技术包括例如碱/SDS处理、CsCl结合、柱色谱法和/或琼脂糖凝胶电泳。组合物可以包含如本文进一步描述的其他组分。

[0205] 本领域的技术人员已知的将核酸插入到载体中的任何方法均可以用于构建在转录和/或翻译控制信号的控制下编码本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的表达载体。这些方法可以包括体外重组DNA和合成技术以及体内重组(参见例如Ausubel, 同上; 或Sambrook, 同上)。

[0206] 结合至同一表位的抗体

[0207] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段包含与表1-5中所示的抗体分子或其片段结合至一个或多个相同表位的抗体和抗体片段。如本文所用, 术语“表位”是指被免疫球蛋白(例如, 抗体或受体)结合组分特异性识别的任何部分。在一些实施方案中, 表位由抗原上的多个化学原子或基团组成。在一些实施方案中, 当抗原采用相关的三维构象时, 此类化学原子或基团是表面暴露的。在一些实施方案中, 当抗原采用这样的构象时, 此类化学原子或基团在空间上彼此物理接近。在一些实施方案中, 当抗原采用替代构象(例如, 线性化)时, 至少一些此类化学原子或基团在物理上彼此分离。

[0208] 附加抗体分子或抗原结合片段可以基于它们在TMIGD2结合测定和/或TAA(例如, HHLA2)结合测定中与本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段交叉竞争(例如, 以统计学上显著的方式竞争性地抑制本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的结合)的能力来鉴定。测试抗体分子或抗原结合片段抑制本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段与TMIGD2结合的能力显示, 测试抗体分子或抗原结合片段可以与该双特异性抗体分子或抗原结合片段竞争与TMIGD2的结合。因此, 此种抗体分子或抗原结合片段可以与本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段结合至TMIGD2上的相同的或相关的表位。测试抗体分子或抗原结合片段抑制本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段与TAA(例如, HHLA2)结合的能力显示, 测试抗体分子或抗原结合片段可以与该双特异性抗体分子或抗原结合片段竞争与TAA(例如, HHLA2)的结合。因此, 此种抗体分子或抗原结合片段

可以与本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段结合至TAA(例如,HLA2)上的相同的或相关的表位。

[0209] 附加剂

[0210] 除其他外,本公开提供了一种或多种附加剂(例如,2、3、4、5种或更多种附加剂),该附加剂可以在组合疗法中与本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段一起施用。如本文所用,附加剂可以为或包括针对特定疾病、病症或疾患(例如,癌症)的任何已知的治疗。例如,附加剂可以为或包括以下中的一者或多者:化学治疗剂、激素疗法、基于细胞的治疗、热疗治疗、光动力疗法、手术、放射或移植。

[0211] 在一些实施方案中,化学治疗剂包括或为一种或多种蒽环类药物、一种或多种细胞骨架破坏剂(例如微管靶向剂,诸如紫杉烷、美登素以及它们的类似物)、一种或多种埃博霉素、一种或多种组蛋白脱乙酰基酶抑制剂(HDAC)、一种或多种拓扑异构酶抑制剂(例如,拓扑异构酶I或拓扑异构酶II抑制剂中的一种或多种)、一种或多种激酶抑制剂、一种或多种核苷酸类似物或核苷酸前体类似物、一种或多种肽抗生素、一种或多种基于铂的剂、一种或多种类视黄醇、一种或多种长春花生物碱,或者它们的组合。

[0212] 在一些实施方案中,化学治疗剂包括或为以下中的一者或多者:放线菌素(Actinomycin)、全反式视黄酸、奥瑞斯他汀(Auristatin)、阿扎胞苷(Azacitidine)、硫唑嘌呤(Azathioprine)、博来霉素(Bleomycin)、硼替佐米(Bortezomib)、卡铂(Carboplatin)、卡培他滨(Capecitabine)、顺铂(Cisplatin)、苯丁酸氮芥(Chlorambucil)、环磷酰胺(Cyclophosphamide)、姜黄素(Curcumin)、阿糖胞苷(Cytarabine)、道诺霉素(Daunorubicin)、多西他赛(Docetaxel)、脱氧氟尿苷(Doxifluridine)、多柔比星(Doxorubicin)、表柔比星(Epirubicin)、埃博霉素(Epothilone)、依托泊苷(Etoposide)、氟达拉滨(Fludarabine)、氟尿嘧啶(Fluorouracil)、吉西他滨(Gemcitabine)、羟基脲(Hydroxyurea)、伊达比星(Idarubicin)、伊马替尼(Imatinib)、伊立替康(Irinotecan)、美登素(Maytansine)和/或它们的类似物(例如,DM1)、双氯乙基甲胺(Mechlorethamine)、巯基嘌呤(Mercaptopurine)、氨甲蝶呤(Methotrexate)、米托蒽醌(Mitoxantrone)、美登木素(Maytansinoid)、奥沙利铂(Oxaliplatin)、紫杉醇(Paclitaxel)、培美曲塞(Pemetrexed)、美罗华(Rituxan)、替尼泊苷(Teniposide)、硫鸟嘌呤(Tioguanine)、托泊替康(Topotecan)、戊柔比星(Valrubicin)、长春花碱(Vinblastine)、长春新碱(Vincristine)、长春地辛(Vindesine)或长春瑞滨(Vinorelbine)。在一些实施方案中,化学治疗剂包括或为抗体-药物缀合物(ADC)。在一些实施方案中,ADC包括或为hLL1-多柔比星、hRS7-SN-38、hMN-14-SN-38、hLL2-SN-38、hA20-SN-38、hPAM4-SN-38、hLL1-SN-38、hRS7-Pro-2-P-Dox、hMN-14-Pro-2-P-Dox、hLL2-Pro-2-P-Dox、hA20-Pro-2-P-Dox、hPAM4-Pro-2-P-Dox、hLL1-Pro-2-P-Dox、P4/D10-多柔比星、吉妥珠单抗奥唑米星(gemtuzumab ozogamicin)、本妥昔单抗维汀(brentuximab vedotin)、曲妥珠单抗美坦新(trastuzumab emtansine)、英妥珠单抗奥唑米星(inotuzumab ozogamicin)、格巴妥莫单抗维多汀(glembatumomab vedotin)、SAR3419、SAR 566658、BIIB015、BT062、SGN-75、SGN-CD19A、AMG-172、AMG-595、BAY-94-9343、ASG-5ME、ASG-22ME、ASG-16M8F、MDX-1203、MLN-0264、抗PSMAADC、RG-7450、RG-7458、RG-7593、RG-7596、RG-7598、RG-7599、RG-7600、RG-7636、ABT-414、IMGN-853、

IMGN-529、伏司妥珠单抗马佛多汀 (vorsetuzumab mafodot in)、罗佛珠单抗米他汀 (lorvotuzumab mertansine) 或者它们的组合。

[0213] 在一些实施方案中,激素疗法可以为或包括他莫昔芬 (tamoxifen)、雷洛昔芬 (raloxifene)、亮丙瑞林 (leuprolide)、比卡鲁胺 (bicalutamide)、格拉司琼 (granisetron)、氟他胺 (flutamide) 或者它们的组合。在一些实施方案中,基于细胞的疗法包括或为嵌合抗原受体T (CAR-T) 细胞、CAR-NK细胞、CAR-NK细胞、TCR转导的T细胞、树突细胞、肿瘤浸润性淋巴细胞 (TIL)、自然杀伤 (NK) 细胞或者它们的组合。在一些实施方案中,用热疗治疗包括或为局部热疗 (例如,外部、腔内或间质热疗)、区域热疗 (例如,深部组织热疗、区域灌注或连续高温腹膜灌注) 或全身热疗。在一些实施方案中,光动力疗法包括或为施用光敏剂,诸如血卟啉及其衍生物、维替泊芬 (Verteporfin) (BPD-MA)、酞菁、光敏剂Pc4、脱甲氧基竹红菌素A、2BA-2-DMHA或者它们的组合。在一些实施方案中,手术包括或为用于去除癌性组织或癌前组织的手术。在一些实施方案中,移植包括或为干细胞移植或器官移植。

[0214] 在一些实施方案中,附加剂在本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的施用之前、基本上同时或之后施用。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段和附加剂的施用使疾病、病症或疾患 (例如,癌症) 得以改善,改善程度大于由单独的本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段或附加剂产生的改善。组合效应和单独的每种剂的效应之间的差异可以是统计学上显著的差异。在一些实施方案中,组合效应可以是协同效应。在一些实施方案中,本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段与附加剂的组合施用允许以与标准给药方案 (例如,附加剂的批准给药方案) 相比减少的剂量、减少的剂量次数和/或降低的剂量频率施用附加剂。

[0215] 与治疗剂的缀合物

[0216] 除其他外,本公开提供了缀合至一种或多种治疗剂的双特异性抗体分子或其抗原结合片段。在一些实施方案中,治疗剂包括或为细胞毒性剂、药物和/或放射性同位素。当与细胞毒性剂缀合时,此类缀合物可以称为“免疫毒素”。细胞毒性剂包括对细胞有害 (例如,可以杀死细胞) 的任何剂。细胞毒性剂的实例包括但不限于紫杉醇 (taxol)、细胞松弛素B、短杆菌肽D、溴化乙锭、吐根碱、丝裂霉素、依托泊苷 (etoposide)、替尼泊苷 (tenoposide)、长春新碱、长春花碱、秋水仙素、多柔比星 (doxorubicin)、柔红霉素 (daunorubicin)、二羟基蒽蒽菌素二酮、米托蒽醌 (mitoxantrone)、光神霉素 (mithramycin)、放线菌素D、1-脱氢睾酮、糖皮质激素、普鲁卡因 (procaine)、丁卡因 (tetracaine)、利多卡因 (lidocaine)、普萘洛尔 (propranolol) 和嘌呤霉素以及前述中的任一者的类似物或同源物。

[0217] 本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以缀合至一种或多种治疗剂 (例如,一种或多种药物),该治疗剂包括但不限于抗代谢物 (例如,氨甲蝶呤、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、阿糖胞苷和/或5-氟尿嘧啶达卡巴嗪)、烷基化剂 (例如,双氯乙基甲胺 (mechlorethamine)、噻替哌苯丁酸氮芥、美法仑 (melphalan)、卡莫司汀 (carmustine) (BSNU)、洛莫司汀 (lomustine) (CCNU)、环磷酰胺、白消安 (busulfan)、二溴甘露糖醇、链脲佐菌素 (streptozotocin)、丝裂霉素C和/或顺式-二胺二氯合铂 (II) (DDP) 顺铂、蒽环类药物 (例如,柔红霉素 (daunorubicin) (以前称为道诺霉素 (daunomycin)) 和/或多柔比星 (doxorubicin))、抗生素 (例如,放线菌素D、博来霉素 (bleomycin)、光神霉素

(mithramycin) 和/或安曲霉素 (anthramycin) (AMC)) 和抗有丝分裂剂 (例如, 长春新碱和/或长春花碱)。本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段可以缀合至一种或多种放射性同位素 (例如, 放射性碘), 以产生用于治疗本文所述的疾病、病症或疾患 (诸如, 本文所述的癌症) 的细胞毒性放射性药物。

[0218] 药物组合物

[0219] 除其他外, 本公开提供了药物组合物, 其包含本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段与一种或多种药学上或生理上可接受的载剂、稀释剂或赋形剂的组合。

[0220] 当指示出“治疗有效量”时, 包含本文所述的至少一种双特异性抗体分子或其抗原结合片段的药物组合物的精确量可以由医生根据受试者的年龄、体重、免疫反应和状况的个体差异来确定。

[0221] 本文所述的药物组合物可以包含缓冲液, 该缓冲液包括但不限于中性缓冲盐水或磷酸盐缓冲盐水 (PBS); 碳水化合物, 诸如葡萄糖、甘露糖、蔗糖、葡聚糖或甘露糖醇; 蛋白质、多肽或氨基酸 (例如, 甘氨酸); 抗氧化剂; 螯合剂, 诸如EDTA或谷胱甘肽; 佐剂 (例如, 氢氧化铝); 以及防腐剂。在一些实施方案中, 药物组合物基本上不含污染物, 例如, 不存在可检测水平的至少一种污染物 (例如, 内毒素)。

[0222] 本文所述的药物组合物可以以适合于待治疗或预防的疾病、病症或疾患的任何方式施用。施用的量和频率将根据诸如患者的状况以及患者的疾病、病症或疾患的类型和严重程度之类的因素来确定, 但是适当的剂量可以通过临床试验来确定。

[0223] 本文所述的药物组合物可以呈多种形式。这些形式包括例如液体剂型、半固体剂型和固体剂型, 诸如液体溶液 (例如, 注射用溶液和输注用溶液)、分散体或悬浮液、脂质体和栓剂。优选的组合物可以是注射用溶液或输注用溶液。本文所述的药物组合物可以被配制用于静脉内、皮下、皮内、肿瘤内、结内、髓内、肌内、经动脉或腹膜内施用。

[0224] 在一些实施方案中, 本文所述的药物组合物被配制用于肠胃外 (例如, 静脉内、皮下、腹膜内或肌内) 施用。在一些实施方案中, 本文所述的药物组合物被配制用于皮下、静脉内、肌内或胸骨内注射或输注。在优选的实施方案中, 本文所述的药物组合物被配制用于皮下或静脉内注射或输注。本文所述的药物组合物可以被配制用于通过使用免疫疗法中通常已知的输注技术来施用 (参见, 例如Rosenberg等人, New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988, 该文献据此以引用的方式整体并入)。

[0225] 如本文所用, 术语“肠胃外施用 (parenteral administration)”和“肠胃外施用 (administered parenterally)”是指除肠内和外用施用以外的通常通过注射或输注进行的施用模式, 并且包括但不限于静脉内、肌内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、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、瘤内和胸骨内注射和输注。

[0226] 在一些实施方案中, 本文所述的药物组合物与一种或多种附加剂组合 (例如, 在一种或多种附加剂之前、与一种或多种附加剂基本上同时或者在一种或多种附加剂之后) 施用。在一些实施方案中, 附加剂可以为或包括使用一种多种化学治疗剂 (例如, 放线菌素 (Actinomycin)、全反式视黄酸、奥瑞斯他汀 (Auristatin)、阿扎胞苷 (Azacitidine)、硫唑嘌呤 (Azathioprine)、博来霉素 (Bleomycin)、硼替佐米 (Bortezomib)、卡铂

(Carboplatin)、卡培他滨(Capecitabine)、顺铂(Cisplatin)、苯丁酸氮芥(Chlorambucil)、环磷酰胺(Cyclophosphamide)、姜黄素(Curcumin)、阿糖胞苷(Cytarabine)、道诺霉素(Daunorubicin)、多西他赛(Docetaxel)、脱氧氟尿苷(Doxifluridine)、多柔比星(Doxorubicin)、表柔比星(Epirubicin)、埃博霉素(Epothilone)、依托泊苷(Etoposide)、氟达拉滨(Fludarabine)、氟尿嘧啶(Fluorouracil)、吉西他滨(Gemcitabine)、羟基脲(Hydroxyurea)、伊达比星(Idarubicin)、伊马替尼(Imatinib)、伊立替康(Irinotecan)、美登素(Maytansine)和/或它们的类似物(例如,DM1)、双氯乙基甲胺(Mechlorethamine)、巯基嘌呤(Mercaptopurine)、氨甲蝶呤(Methotrexate)、米托蒽醌(Mitoxantrone)、美登木素(Maytansinoid)、奥沙利铂(Oxaliplatin)、紫杉醇(Paclitaxel)、培美曲塞(Pemetrexed)、美罗华(Rituxan)、替尼泊苷(Teniposide)、硫鸟嘌呤(Tioguanine)、托泊替康(Topotecan)、戊柔比星(Valrubicin)、长春花碱(Vinblastine)、长春新碱(Vincristine)、长春地辛(Vindesine)、长春瑞滨(Vinorelbine)或者它们的组合)的骨髓移植或淋巴细胞消融疗法。在某些实施方案中,受试者经受使用高剂量化学疗法的标准治疗,随后经受外周血干细胞移植。在某些实施方案中,在移植后,受试者接受本文所述的一种或多种药物组合物。在一些实施方案中,本文所述的药物组合物在手术之前或之后施用。

[0227] 待施用于受试者的任何前述疗法的剂量将随受治疗的疾病、病症或疾患并且基于特定受试者而变化。可以根据本领域接受的实践来进行针对人施用的剂量缩放。

[0228] 除其他外,本公开提供了药物组合物,该药物组合物包含本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或其抗原结合片段和免疫效应细胞(例如,T细胞(例如,初始T细胞和/或效应T细胞)和/或NK细胞)。在一些实施方案中,本文所述的免疫效应细胞装载有本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或其抗原结合片段。在一些实施方案中,本文所述的免疫效应细胞在冷冻保存之前预先装载有本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或其抗原结合片段。在一些实施方案中,本文所述的免疫效应细胞在装载本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或其抗原结合片段之前被冷冻保存。可以将包含如本文所述的预先装载有一种或多种双特异性抗体分子或其抗原结合片段的免疫效应细胞的药物组合物施用于患有本文所述的疾病、病症或疾患的患者。在一些实施方案中,免疫效应细胞包括或为T细胞(例如,初始T细胞和/或效应T细胞)。在一些实施方案中,免疫效应细胞包括或为NK细胞。在一些实施方案中,本文所述的免疫效应细胞来源于患有本文所述的疾病、病症或疾患的患者。在一些实施方案中,本文所述的免疫效应细胞是从脐带组织、胎盘组织、诱导性多能干细胞(iPSC)或外周血单个核细胞(PBMC)分离的。

[0229] 治疗方法

[0230] 除其他外,本公开提供了治疗受试者中的本文所述的疾病、病症或疾患的方法,其包括施用包含本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段的药物组合物。在一些实施方案中,将治疗有效量的本文所述的至少一种药物组合物施用于患有疾病、病症或疾患的受试者。

[0231] 在一些实施方案中,本公开提供了包含见于表1的氨基酸序列的本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段,其用作药物。在一些实施方案中,本公开提供了包含见于表1的氨基酸序列的本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段,

其用于治疗本文所述的疾病、病症或疾患。在一些实施方案中,本公开提供了包含见于表1的氨基酸序列的本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段用于制造用于治疗本文所述的疾病、病症或疾患的药物的用途。

[0232] 包含本文(例如,在表1-5中)所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段的药物组合物可以用于制造用于治疗受试者的疾病、病症或疾患的药物。包含本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段的药物组合物可以用于制造用于调节受试者的免疫反应的药物。可以根据本文所述的剂量方案将包含本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段的药物组合物单独或与一种或多种附加剂组合(例如,在一种或多种附加剂之前、与一种或多种附加剂基本上同时或者在一种或多种附加剂之后)施用于受试者,该附加剂可以为或包括治疗剂、治疗程序或治疗方式中的一者或多者。

[0233] 待用本文所述的方法治疗的受试者可以是哺乳动物(例如,灵长类动物、小鼠、人源化小鼠、大鼠、非人哺乳动物、家畜(诸如犬、猫、奶牛或马)),并且优选地是人(例如,患有本文所述的疾病、病症或疾患,或者有发展成本文所述的疾病、病症或疾患的风险的患者)。受试者可以是癌症的动物模型,诸如人源性癌症的异种移植物动物模型。在一些实施方案中,受试者尚未经受诸如化学疗法、放射疗法、靶向疗法和/或免疫检查点疗法的治疗。在另一个实施方案中,受试者已经受诸如化学疗法、放射疗法、靶向疗法和/或免疫检查点疗法的治疗。在某些实施方案中,受试者已接受用于去除癌性组织或癌前组织的手术。在其他实施方案中,癌性组织尚未被去除,例如,癌性组织可能位于身体的不能进行手术的区域,诸如在对生命至关重要的组织中,或者在手术程序会对受试者产生相当大的伤害风险的区域中。

[0234] 提供了使用包含本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段的药物组合物来治疗受试者的癌症或肿瘤(例如,减少、抑制受试者的癌症或肿瘤,或者延迟受试者的癌症或肿瘤的进展中的一者或多者)的方法。受试者可以患有成人或儿童形式的癌症。癌症可处于早期、中期或晚期,或者可以是转移性癌症。

[0235] 提供了使用包含本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段的药物组合物来治疗受试者的癌症的至少一种体征或症状(例如,减少、抑制受试者的癌症的至少一种体征或症状,或者延迟受试者的癌症的至少一种体征或症状的进展中的一者或多者)的方法。在一些实施方案中,本文所述的药物组合物可用于延迟癌症的发作、减缓癌症的进展或者改善癌症的一种或多种体征或症状。在一些实施方案中,癌症的生理体征或症状包括或为以下中的一者或多者:肿瘤体积增加、癌细胞数目增加、转移瘤数目增加、预期寿命减少、癌细胞增殖增加或癌细胞存活率增加。在一些实施方案中,癌症的身体体征或症状包括或为以下中的一者或多者:皮肤病变(例如,肿块或痣)、体重减轻、消化问题、不适、疲劳、疼痛、吞咽困难、咳嗽、异常出血和/或分泌物、肠道和/或膀胱习惯改变,或者精神错乱。

[0236] 癌症可以包括但不限于实体瘤、血液癌症(例如,白血病、淋巴瘤或骨髓瘤,例如,多发性骨髓瘤)、转移性病变或它们的组合。实体瘤的实例包括但不限于恶性肿瘤,例如,肉瘤和癌,例如,各种器官系统的腺癌,诸如,影响肺、乳腺、卵巢、淋巴结、生殖器、胃肠道(例如,结肠)和泌尿生殖道(例如,肾、尿路上皮、膀胱细胞或前列腺)、咽喉、CNS(例如,脑、神经或胶质细胞)、头颈、皮肤(例如,黑素瘤,例如,皮肤黑素瘤)、胰腺和骨骼(例如,脊索瘤)的

腺癌。

[0237] 在一些实施方案中,癌症包括或为肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC)(例如,具有鳞状组织学和/或非鳞状组织学的非小细胞肺癌(NSCLC)或NSCLC腺癌)或小细胞肺癌(SCLC))、皮肤癌(例如,默克尔细胞癌或黑素瘤(例如,晚期黑素瘤))、卵巢癌、间皮瘤、膀胱癌、软组织肉瘤(例如,血管外皮细胞瘤(HPC))、骨癌(骨肉瘤)、肾癌(例如,肾脏癌症(例如,肾细胞癌))、肝癌(例如,肝细胞癌)、胆管癌、肉瘤、骨髓增生异常综合征(MDS)、前列腺癌、乳腺癌(例如,不表达雌激素受体、孕激素受体或Her2/neu中的一者、两者或全部的乳腺癌,例如,三阴性乳腺癌(TNBC))、结直肠癌(例如,复发性结直肠癌或转移性结直肠癌,例如,微卫星不稳定结直肠癌、微卫星稳定结直肠癌、错配修复完善型结直肠癌或错配修复缺陷型结直肠癌)、鼻咽癌、十二指肠癌、子宫内膜癌、胰腺癌、头颈癌(例如,头颈部鳞状细胞癌(HNSCC))、肛门癌、胃食管癌、甲状腺癌(例如,间变性甲状腺癌)、宫颈癌(例如,宫颈鳞状细胞癌)、神经内分泌肿瘤(例如,非典型肺类癌瘤)、淋巴增生性疾病(例如,移植后淋巴增生性疾病)、淋巴瘤(例如,T细胞淋巴瘤、B细胞淋巴瘤或非霍奇金淋巴瘤)、骨髓瘤(例如,多发性骨髓瘤)、白血病(例如,髓系白血病或淋巴系白血病)或者它们的组合。

[0238] 在一些实施方案中,癌症包括或为脑肿瘤,例如,胶质母细胞瘤、胶质肉瘤或复发性脑肿瘤。在一些实施方案中,癌症包括或为胰腺癌,例如,晚期胰腺癌。在一些实施方案中,癌症包括或为皮肤癌,例如,黑素瘤(例如,II-IV期黑素瘤、HLA-A2阳性黑素瘤、不可切除的黑素瘤或转移性黑素瘤)或默克尔细胞癌。在一些实施方案中,癌症包括或为肾癌,例如,肾细胞癌(RCC)(例如,转移性肾细胞癌)。在一些实施方案中,癌症包括或为乳腺癌,例如,转移性乳腺癌或IV期乳腺癌,例如,TNBC。在一些实施方案中,癌症包括或为病毒相关癌症。在一些实施方案中,癌症包括或为肛管癌(例如,肛管鳞状细胞癌)。在一些实施方案中,癌症包括或为宫颈癌(例如,宫颈鳞状细胞癌)。在一些实施方案中,癌症包括或为胃癌(例如,爱泼斯坦-巴尔(Epstein Barr)病毒(EBV)阳性胃癌或者胃癌或胃食管连接部癌)。在一些实施方案中,癌症包括或为头颈癌(例如,头颈HPV阳性或HPV阴性鳞状细胞癌(SCCHN))。在一些实施方案中,癌症包括或为鼻咽癌(NPC)。在一些实施方案中,癌症包括或为结直肠癌,例如,复发性结直肠癌或转移性结直肠癌,例如,微卫星不稳定结直肠癌、微卫星稳定结直肠癌、错配修复完善型结直肠癌(mismatch repair proficient colorectal ca),或错配修复缺陷型结直肠癌(mismatch repair deficient colorectal cancer)。

[0239] 在一些实施方案中,癌症包括或为血液癌症。在一些实施方案中,癌症包括或为白血病,例如,急性髓系白血病、慢性髓系白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病、慢性白血病或急性白血病。在一些实施方案中,癌症包括或为淋巴瘤,例如,霍奇金淋巴瘤(HL)、非霍奇金淋巴瘤、淋巴细胞性淋巴瘤或DLBCL(例如,复发性或难治性HL或DLBCL)。在一些实施方案中,癌症包括或为骨髓瘤,例如,多发性骨髓瘤。

[0240] 包含本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段的药物组合物的施用可以以任何医学上适当的方式(例如,注射、摄取、输血(transfusion)、吸入、植入或移植)进行。在一些实施方案中,本文所述的药物组合物通过注射或输注施用。本文所述的药物组合物可经动脉、皮下、静脉内、皮内、肿瘤内、节内、髓内、肌内或腹膜内施用于患者。在一些实施方案中,本文所述的药物组合物胃肠外(例如,静脉内、皮下、腹膜内或肌内)施用。在一些实施方案中,本文所述的药物组合物通过皮下、静脉内、肌内或胸骨内输注或注射来

施用。在一些实施方案中,本文所述的药物组合物通过肌内或皮下注射施用。本文所述的药物组合物可直接注射到受试者的炎症部位、局部疾病部位、淋巴结、器官、肿瘤或感染部位中。

[0241] 在一些实施方案中,本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段与一种或多种其他治疗剂或治疗方式组合施用。在一些实施方案中,一种或多种附加剂(例如,治疗剂或治疗方式)包括或为抗癌剂或抗癌方式。在一些实施方案中,此种组合疗法在治疗癌症方面显示出协同效应。已知的附加剂(例如,在治疗癌症方面显示出治疗功效的化合物或治疗)可以包括,例如,一种或多种化学治疗剂、烷基化剂、抗代谢物、抗微管剂、拓扑异构酶抑制剂、细胞毒性抗生素、血管生成抑制剂、免疫调节剂、疫苗、基于细胞的治疗(例如,同种异体干细胞移植或自体干细胞移植)、器官移植、放射疗法或手术。

[0242] 在一些实施方案中,化学治疗剂可以为或包括一种或多种蒽环类药物、一种或多种细胞骨架破坏剂(例如微管靶向剂,诸如紫杉烷、美登素以及它们的类似物)、一种或多种埃博霉素、一种或多种组蛋白脱乙酰基酶抑制剂(HDAC)、一种或多种拓扑异构酶抑制剂(例如,拓扑异构酶I或拓扑异构酶II抑制剂中的一种或多种)、一种或多种激酶抑制剂、一种或多种核苷酸类似物或核苷酸前体类似物、一种或多种肽抗生素、一种或多种基于铂的剂、一种或多种类视黄醇、一种或多种长春花生物碱或者它们的组合。在一些实施方案中,化学治疗剂可以为或包括以下中的一者或多者:放线菌素(Actinomycin)、全反式视黄酸、奥瑞斯他汀(Auristatin)、阿扎胞苷(Azacitidine)、硫唑嘌呤(Azathioprine)、博来霉素(Bleomycin)、硼替佐米(Bortezomib)、卡铂(Carboplatin)、卡培他滨(Capecitabine)、顺铂(Cisplatin)、苯丁酸氮芥(Chlorambucil)、环磷酰胺(Cyclophosphamide)、姜黄素(Curcumin)、阿糖胞苷(Cytarabine)、道诺霉素(Daunorubicin)、多西他赛(Docetaxel)、脱氧氟尿苷(Doxifluridine)、多柔比星(Doxorubicin)、表柔比星(Epirubicin)、埃博霉素(Epothilone)、依托泊苷(Etoposide)、氟达拉滨(Fludarabine)、氟尿嘧啶(Fluorouracil)、吉西他滨(Gemcitabine)、羟基脲(Hydroxyurea)、伊达比星(Idarubicin)、伊马替尼(Imatinib)、伊立替康(Irinotecan)、美登素(Maytansine)和/或它们的类似物(例如,DM1)、双氯乙基甲胺(Mechlorethamine)、巯基嘌呤(Mercaptopurine)、氨甲蝶呤(Methotrexate)、米托蒽醌(Mitoxantrone)、美登木素(Maytansinoid)、奥沙利铂(Oxaliplatin)、紫杉醇(Paclitaxel)、培美曲塞(Pemetrexed)、美罗华(Rituxan)、替尼泊苷(Teniposide)、硫鸟嘌呤(Tioguanine)、托泊替康(Topotecan)、戊柔比星(Valrubicin)、长春花碱(Vinblastine)、长春新碱(Vincristine)、长春地辛(Vindesine)或长春瑞滨(Vinorelbine)。在一些实施方案中,化学治疗剂可以是抗体-药物缀合物(ADC)。在一些实施方案中,ADC包括或为hLL1-多柔比星、hRS7-SN-38、hMN-14-SN-38、hLL2-SN-38、hA20-SN-38、hPAM4-SN-38、hLL1-SN-38、hRS7-Pro-2-P-Dox、hMN-14-Pro-2-P-Dox、hLL2-Pro-2-P-Dox、hA20-Pro-2-P-Dox、hPAM4-Pro-2-P-Dox、hLL1-Pro-2-P-Dox、P4/D10-多柔比星、吉妥珠单抗奥唑米星(gemtuzumab ozogamicin)、本妥昔单抗维汀(brentuximab vedotin)、曲妥珠单抗美坦新(trastuzumab emtansine)、英妥珠单抗奥唑米星(inotuzumab ozogamicin)、格巴妥莫单抗维多汀(glembatumomab vedotin)、SAR3419、SAR566658、BIIB015、BT062、SGN-75、SGN-CD19A、AMG-172、AMG-595、BAY-94-9343、ASG-5ME、ASG-22ME、ASG-16M8F、MDX-1203、MLN-0264、抗PSMAADC、RG-7450、

RG-7458、RG-7593、RG-7596、RG-7598、RG-7599、RG-7600、RG-7636、ABT-414、IMGN-853、IMGN-529、伏司妥珠单抗马佛多汀 (vorsetuzumab mafodotin)、罗佛珠单抗米他汀 (lorvotuzumab mertansine) 或者它们的组合。

[0243] 试剂盒

[0244] 除其他外,本公开提供了试剂盒,其包括本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段,以及使用和/或施用的说明书。在一些实施方案中,试剂盒包括本文所述的一种或多种双特异性抗体分子或抗原结合片段和药学上可接受的载剂,以及使用和/或施用的说明书。

[0245] 在一些实施方案中,试剂盒包括用于本文所述的任何方法的说明书。说明书可以包括对将第一药物组合物和第二组合物(例如,和附加剂)施用于受试者以在受试者中实现预期活性的描述。试剂盒可以进一步包括对基于鉴定受试者是否需要治疗来选择适合治疗的受试者的描述。在一些实施方案中,说明书包括对将第一药物组合物和第二药物组合物施用于需要治疗的受试者的描述。

[0246] 涉及本文所述的第一药物组合物和第二组合物(例如,附加剂)的说明书通常包括关于用于预期治疗的剂量、给药时间表和施用途径的信息。容器可以是单位剂量、散装包装(例如,多剂量包装)或亚单位剂量。本文所述的试剂盒中提供的说明书通常是标签或包装插页上的书面说明书。标签或包装插页标明一种或多种药物组合物用于治疗受试者的疾病、病症或疾患,延迟受试者的疾病、病症或疾患的发作,以及/或者缓和受试者的疾病、病症或疾患。

[0247] 本文提供的试剂盒处于合适的包装中。合适的包装包括但不限于小瓶、瓶、广口瓶和/或软包装。还设想了用于与特定装置(诸如输注装置)组合使用的包装。试剂盒可以具有无菌接入口(例如,容器可以是具有可被皮下注射针刺穿的塞子的静脉注射溶液袋或小瓶)。容器也可以具有无菌接入口。

[0248] 试剂盒任选地可以提供附加部件,诸如缓冲液和/或解释信息。通常,试剂盒包括容器以及位于容器上或与容器相关的标签或一个或多个包装插页。在某个实施方案中,本公开提供了包括上文所述的试剂盒的内容物的制品。

[0249] 以引用的方式并入

[0250] 本文中提及的所有公布、专利申请、专利和其他参考文献(包括GenBank登录号)以引用方式整体并入。另外,材料、方法和实施例仅是说明性的而非旨在限制。除非另外定义,否则本文使用的所有技术术语和科学术语具有与本公开所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。虽然在本公开的实践或测试中可以使用与本文所述的方法和材料相似或等效的方法和材料,但是本文描述了合适的方法和材料。

[0251] 通过以下实施例进一步说明本公开。实施例仅出于说明目的而提供。不应将其解读为以任何方式限制本公开的范围或内容。

[0252] 实施例

[0253] 提供以下实施例是为了向技术人员描述如何制备和使用本文所述的方法和组合物,但是以下实施例不旨在限制本公开的范围。

[0254] 实施例1:某些TMIGD2-TAA双特异性抗体分子的表征

[0255] 本实施例展示了用于表征双特异性抗体分子或其抗原结合片段,尤其是本文所述

的抗TMIGD2和抗肿瘤相关抗原 (TAA) 双特异性抗体分子或其抗原结合片段的方法。本实施例进一步提供了用于确定和/或表征本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的相关功能活性的各种方法。

[0256] 图1示出了示例性双特异性抗体分子的示意图,该双特异性抗体分子包含附接至靶向TAA的IgG抗体的重链的C-末端的靶向TMIGD2的scFv(四价Morrison双特异性格式)。将L234A/L235A突变引入Fc区中,以降低效应功能并防止循环中表达TMIGD2的免疫细胞被破坏。scFv结构域内的内部接头(在 V_H 结构域和 V_L 结构域之间)可以包括或为 $(G_4S)_4$ 重复序列。Fc尾部和scFv结构域之间的接头可以包括或为 $(G_4S)_2$ 、 $(G_4S)_3$ 或 $(G_4S)_4$ 重复序列。

[0257] 在本文所述的测定中构建和使用示例性双特异性抗体分子,该双特异性抗体分子包含附接至靶向CD20的IgG抗体(利妥昔单抗)的重链的C-末端的靶向TMIGD2的scFv(如据此以引用的方式整体并入的W02014100823A1中所述的Amplimmune 4.5(Amp4.5))。在本文的测定中还构建和使用附加示例性抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体(TK20-17C7-01、TK20-29F8-16和TK20-39C9-2134)。

[0258] Jurkat报告基因测定

[0259] 为了评估示例性抗TMIGD2/抗CD20抗体分子对TCR刺激的增强,使TMIGD2在表达NFAT驱动的萤光素酶报告基因的Jurkat细胞中过表达。当将双特异性抗体分子固定于塑料板上(图2A)或与CD20+Raji细胞结合(图3)时,这些Jurkat细胞上的TMIGD2与本文提供的抗TMIGD2/抗CD20抗体分子的接合与单独的抗CD3刺激相比增加了T细胞活化。这些结果利用本文提供的附加抗TMIGD2/抗CD20抗体分子(TK20-17C7-01、TK20-29F8-16和TK20-39C9-2134)得到了证实,这证实了此类抗TMIGD2/抗CD20抗体分子在与CD20+Raji细胞结合时增加了T细胞活化(图4)。

[0260] 由抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子诱导的T细胞活化的增强优于在使用Amp4.5的人IgG4型式时所观察到的(图2A)。当将抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子添加至溶液中时,未观察到T细胞信号传导的增强(图2B),并且在不存在抗CD3抗体的情况下,板结合的抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子不诱导T细胞活化。这些数据显示,TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子在TMIGD2-jurkat报告基因测定中(包括在存在表达TAA(CD20)的Raji靶细胞的情况下)显示出激动剂活性并增强T细胞活化。

[0261] 板结合测定

[0262] 将抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子、抗TMIGD2 IgG4(Amp4.5)或人IgG4同种型对照以10ug/mL与0.5ug/mL的抗CD3抗体(OKT3)一起在50uL PBS中在4°C下过夜包被到96孔白色平底组织培养板的孔上。用PBS洗涤板3次,然后将 4×10^4 个TMIGD2-Jurkat NFAT报告细胞添加至每个孔中的100μL含有10% FBS的完全RPMI中。在一些孔中,在培养基中以10μg/mL添加抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子。将细胞在37°C下温育6小时,然后将100μL的Bio-Glo™萤光素酶测定试剂(Promega®,G7940)添加至每个孔中。在读板器上测量萤光素酶活性。

[0263] Raji共培养测定

[0264] 将Raji细胞(2×10^4 个)与10μg/mL抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体分子一起在50μL含有10% FBS的完全RPMI中铺板于96孔白色平底组织培养板中,并在37°C下温育30分钟。将TMIGD2-Jurkat NFAT报告细胞(4×10^4 个)与1μg/mL抗CD3抗体(OKT3)或小鼠IgG2a同种

型对照一起在50 μ l完全RPMI中添加至每个孔中。将细胞在37℃下温育6小时,然后将100u1的Bio-Glo™荧光素酶测定试剂(Promega®,G7940)添加至每个孔中。在读板器上测量荧光素酶活性。

[0265] 将Raji细胞(2×10^4 个)与抗TMIGD2/抗CD20双特异性抗体(TK20-17C7-01、TK20-29F8-16和TK20-39C9-2134)一起在50 μ l R10培养基(RPMI 1640+10%胎牛血清)中以范围为10-0.5 μ g/mL的3倍连续稀释铺板于96孔白色平底组织培养板中。抗CD20(IgG1 LALA)作为阴性对照被包括在内。将细胞在37℃下温育30分钟。将TMIGD2-Jurkat NFAT报告细胞(4×10^4 个)与在50 μ l R10培养基中的1 μ g/mL抗CD3抗体(OKT3)一起添加至每个孔中。将细胞在37℃下温育6小时,然后将100u1的Bio-Glo™荧光素酶测定试剂(Promega®,G7940)添加至每个孔中。在读板器上测量荧光素酶活性。

[0266] 实施例2:某些TMIGD2-TAA双特异性抗体分子的表征

[0267] 本实施例展示了用于表征双特异性抗体分子或其抗原结合片段,尤其是本文所述的抗TMIGD2和抗TAA(例如,HHLA2)双特异性抗体分子或其抗原结合片段的方法。本实施例进一步提供了用于确定和/或表征本文所述的双特异性抗体分子或其抗原结合片段的相关功能活性的各种方法。在本文所述的测定中构建和使用示例性双特异性抗体分子,该双特异性抗体分子包含衔接至靶向HHLA2的IgG抗体的重链的C-末端的靶向TMIGD2的scFv(参见,例如,表1-4)。

[0268] Jurkat报告基因测定

[0269] 为了评估示例性抗TMIGD2/抗HHLA2抗体分子对TCR刺激的增强,使TMIGD2在表达NFAT驱动的荧光素酶报告基因的Jurkat细胞中过表达。使用固定于塑料板上的、在溶液中的,或者在存在表达HHLA2的Raji细胞的情况下的TMIGD2/抗HHLA2双特异性抗体分子,相对于单独的抗CD3抗体的刺激,对这些Jurkat细胞上的TMIGD2与抗TMIGD2/抗HHLA2抗体分子的接合进行评估。

[0270] 板结合测定

[0271] 将抗TMIGD2/抗HHLA2抗体分子、抗TMIGD2 IgG或具有Fc沉默突变同种型对照的人IgG1以约10ug/mL与约0.5ug/mL的抗CD3抗体(OKT3)一起在约50u1 PBS中在4℃下过夜包被到96孔白色平底组织培养板的孔上。用PBS洗涤板3次,然后将约 4×10^4 个TMIGD2-Jurkat NFAT报告细胞添加至每个孔中的约100 μ l含有约10% FBS的完全RPMI中。在一些孔中,在培养基中以约10 μ g/mL添加抗TMIGD2/抗HHLA2双特异性抗体分子。将细胞在约37℃下温育约6小时,然后将约100 μ l的Bio-Glo™荧光素酶测定试剂(Promega®,G7940)添加至每个孔中。在读板器上测量荧光素酶活性。

[0272] Raji共培养测定

[0273] 将Raji细胞(2×10^4 个)与约10 μ g/mL抗TMIGD2/抗HHLA2双特异性抗体分子一起在约50 μ l含有约10% FBS的完全RPMI中铺板于96孔白色平底组织培养板中,并在约37℃下温育约30分钟。将TMIGD2-Jurkat NFAT报告细胞(约 4×10^4 个)与约1 μ g/mL抗CD3(OKT3)或小鼠IgG同种型对照一起在约50 μ l完全RPMI中添加至每个孔中。将细胞在约37℃下温育约6小时,然后将约100u1的Bio-Glo™荧光素酶测定试剂(Promega®,G7940)添加至每个孔中。在读板器上测量荧光素酶活性。

[0274] 等效方案

[0275] 本领域技术人员应理解,本领域技术人员将容易想到对本公开的各种改变、修改和改进。此类改变、修改和改进旨在成为本公开的一部分,并且旨在落入本公开的精神和范围内。因此,前述描述和附图仅是示例性的,并且本公开中描述的任何发明均由所附权利要求书进一步详细描述。

[0276] 本领域技术人员应理解可归因于在本文所述的测定或其他方法中获得的值的典型的标准偏差或误差。本文引用的用于描述本公开的背景并提供关于其实践的附加细节的出版物、网站和其他参考材料特此以引用的方式整体并入。

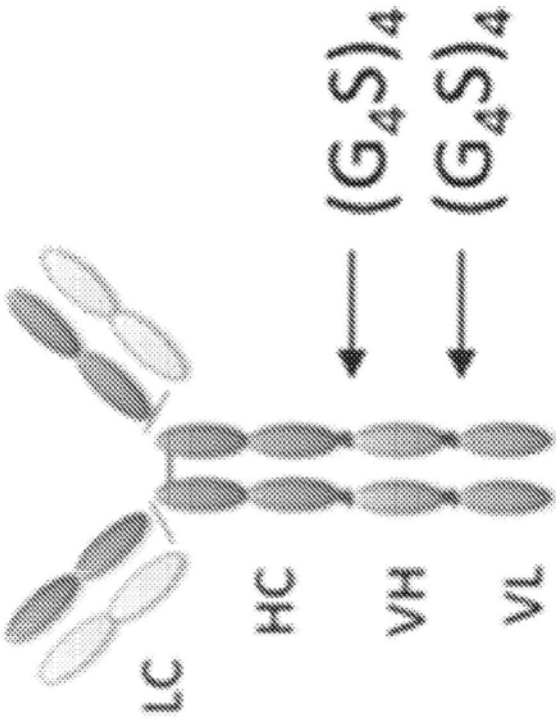


图1

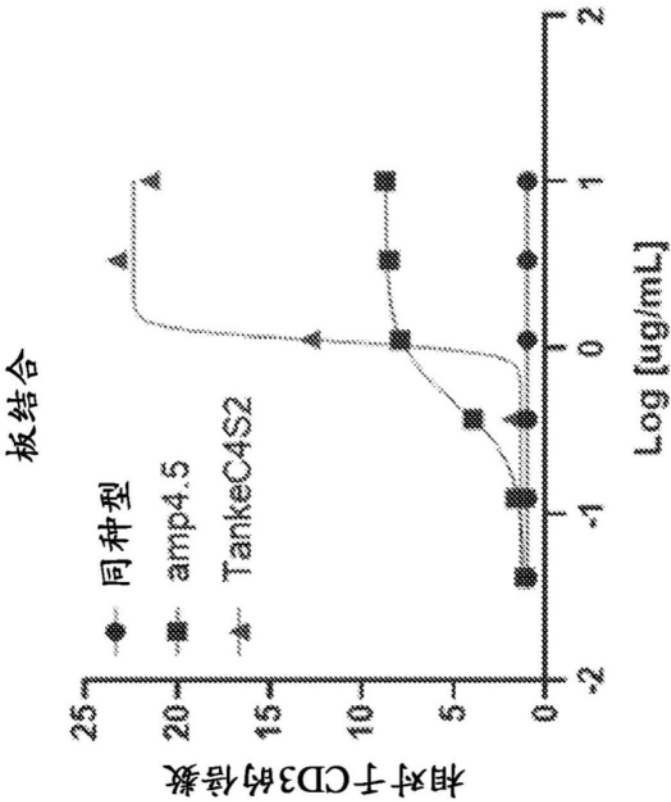


图2A

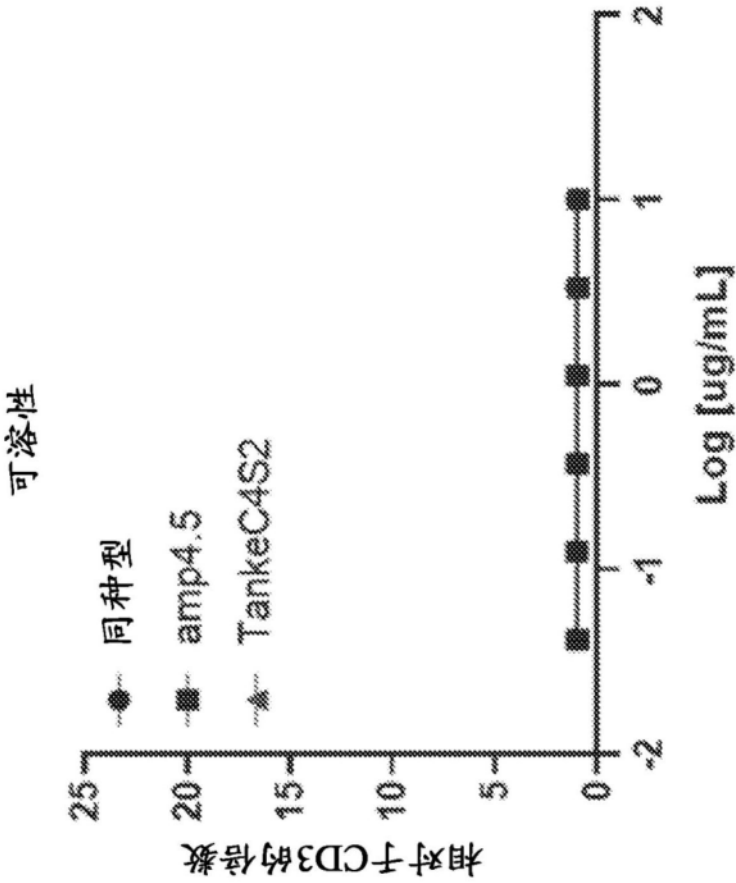


图2B

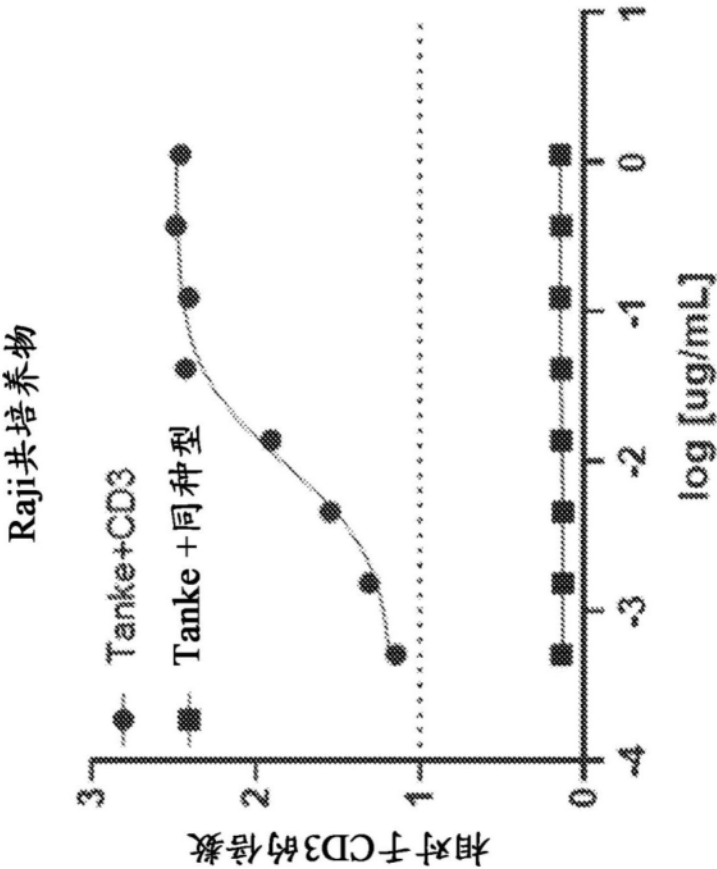


图3

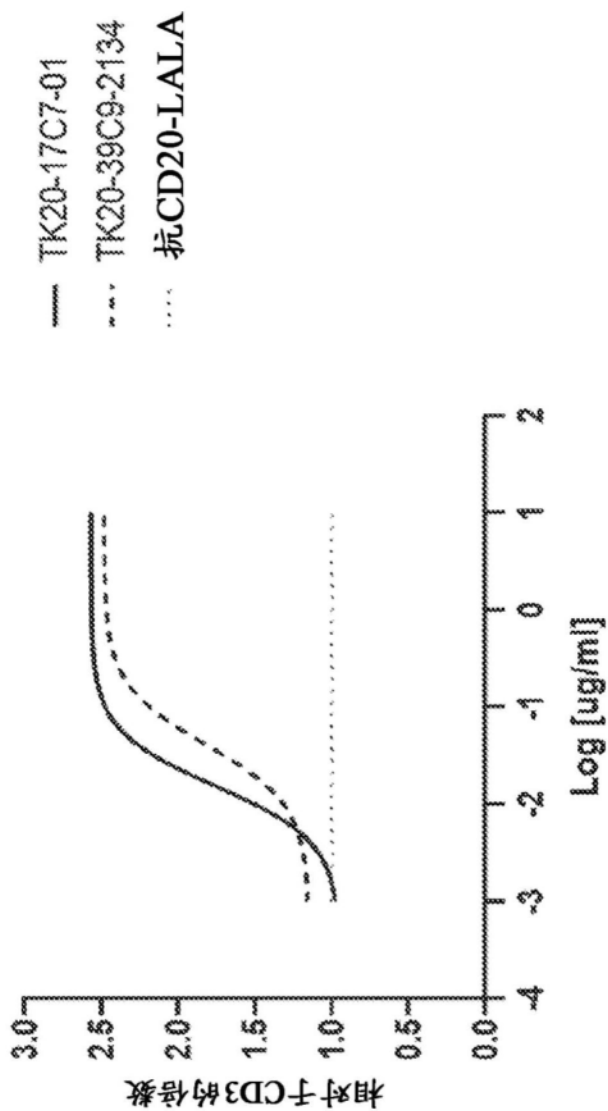


图4