(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115916817 A
(43)申请公布日 2023.04.04

(21)申请号 202080095372.0

(22)申请日 2020.12.04

(30)优先权数据
62/945,065 2019.12.06 US
63/061,763 2020.08.05 US
63/109,839 2020.11.04 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.08.01

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/063492 2020.12.04

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/113776 EN 2021.06.10

(71)申请人 朱诺治疗学股份有限公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 C·豪斯金斯 K·哈灵顿

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

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

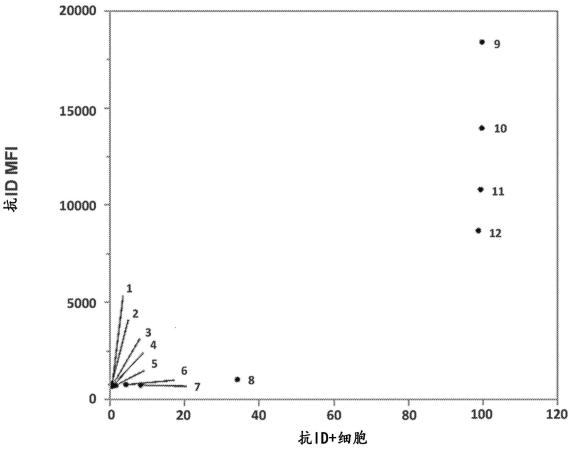
权利要求书16页 说明书157页
序列表54页 附图10页

(54)发明名称

# 针对BCMA靶向结合结构域的抗独特型抗体及相关组合物和方法

(57)摘要

提供了抗独特型抗体，其特异性地识别抗BCMA抗体部分、特别是存在于包括嵌合抗原受体(CAR)在内的重组受体中的抗BCMA抗体部分。本公开文本还涉及抗独特型抗体用于特异性地鉴定和/或选择表达此类重组受体的细胞如抗BCMA CAR T细胞的用途。本公开文本还涉及抗独特型抗体用于特异性地激活此类细胞的用途。




CN 115916817 A

1.一种与抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:74或104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75或105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76或106所示的氨基酸序列的CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:81或111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82或112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83或113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

2.一种与抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含分别含有SEQ ID NO:84或114的氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含分别含有SEQ ID NO:85或115的氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

3.一种与抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含与SEQ ID NO:84或114所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和

VL区,所述VL区包含与SEQ ID NO:85或115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

4.一种与抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:84或114所示的氨基酸序列的VH区;和

含有SEQ ID NO:85或115所示的氨基酸序列的VL区。

5.根据权利要求2-4中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:74或104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75或105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76或106所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:81或111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82或112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83或113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

6.根据权利要求1-3和5中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

所述VH区包含与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

7.根据权利要求1-6中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列并且所述VL区包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列;或

所述VH区包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列并且所述VL区包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。

8.根据权利要求1-7中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且所述VL区包含含有SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列的CDR-L3。

9.根据权利要求1-8中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列并且所述VL区包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列。

10.根据权利要求1-7中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

11.根据权利要求1-7和10中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列并且所述VL区包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。

12.根据权利要求1-11中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段与人BCMA结合。

13.根据权利要求1-12中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

14.根据权利要求13所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。

15.根据权利要求14所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。

16.根据权利要求15所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。

17.根据权利要求14-16中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的单链片段是单链可变片段(scFv),任选地其中所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

18.根据权利要求1-17中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段与如下表位结合,其在所述靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。

19.根据权利要求1-18中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

20.根据权利要求17或权利要求18所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述scFv位于或被包括在CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在CAR的胞外部分内的scFv。

21.根据权利要求19或权利要求20所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域。

22.根据权利要求21所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述间隔子是免疫球蛋白间隔子,任选地其中所述间隔子包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

23.根据权利要求21或权利要求22所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述跨膜结构域包含CD28的跨膜部分,所述CD28任选地是人CD28。

24.根据权利要求21-23中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述CAR的间隔子结构域中的表位结合。

25.根据权利要求1-24中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合CD28或其部分,所述CD28任选地是人CD28。

26.根据权利要求1-25中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与Fc结构域中的表位结合,所述Fc结构域任选地是人IgG1Fc结构域。

27.根据权利要求1-26中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段特异性地结合。

28.根据权利要求1-27中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。

29.根据权利要求1-28中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与另一种抗BCMA抗体交叉反应,所述另一种抗BCMA抗体任选地被包含在另一种CAR的胞外抗原结合结构域中。

30.根据权利要求29所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述另一种抗BCMA抗体:

(i)包含VH区,所述VH区含有与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的氨基酸序列;和/或VL区,所述VL区含有与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的氨基酸;和/或

(ii)包含与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的scFv;和/或

(iii)包含具有1、2、3或4或更多个不同于SEQ ID NO:15所示的CDR-H1氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H1,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:16所示的CDR-H2氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H2,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:17所示的CDR-H3氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H3,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:22所示的CDR-L1氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L1,和/或具有1、2、3或4个或更多

个不同于SEQ ID NO:23所示的CDR-L2氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L2,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:24所示的CDR-L3氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L3;和/或

(iv)与人BCMA的表位结合,所述表位与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段所结合的人BCMA的表位不同。

31.根据权利要求1-30中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是包含所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的CAR的激动剂。

32.根据权利要求31所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在呈可溶形式时是CAR的激动剂。

33.根据权利要求31或权利要求32所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在被固定至支持物或固定相时是CAR的激动剂。

34.根据权利要求33所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述支持物是板。

35.根据权利要求33所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述支持物是珠。

36.根据权利要求1-35中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合不被人BCMA或人BCMA-Fc阻断。

37.一种与第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:28或52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29或53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30或54所示的氨基酸序列的CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:35或59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36或60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37或61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

38.一种与第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含分别含有SEQ ID NO:38或62的氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含分别含有SEQ ID NO:39或63的氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

39.一种与第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含与SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和

VL区,所述VL区包含与SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

40.一种与第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列的VH区;和

含有SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列的VL区。

41.根据权利要求38-40中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:28或52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29或53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30或54所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:35或59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36或60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37或61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

42.根据权利要求37、38和41中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;并且

所述VL区包含与SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

43.根据权利要求37-39、41和42中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:所述VH区包含SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列;并且

所述VL区包含SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列。

44.根据权利要求37-39、41和42中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

所述VH区包含与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

45.根据权利要求37-44中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;并且VL区包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列;或

所述VH区包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;并且所述VL区包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。

46.根据权利要求37-45中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-L3。

47.根据权利要求37-46中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;并且所述VL区包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。

48.根据权利要求37-45中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:53所示

的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

49.根据权利要求37-45和48中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;并且所述VL区包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。

50.根据权利要求37-49中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段与人BCMA结合,并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段与人BCMA结合。

51.根据权利要求37-50中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区;并且

所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

52.根据权利要求51所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是第一单链片段,并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是第二单链片段。

53.根据权利要求52所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头,并且所述第二单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。

54.根据权利要求53所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一单链片段和/或所述第二单链片段的柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。

55.根据权利要求52-54中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第一单链片段是第一scFv,并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第二单链片段是第二scFv。

56.根据权利要求55所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列;并且所述第二scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

57.根据权利要求37-56中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段与如下表位结合:

所述表位在所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分;以及

所述表位在所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。

58.根据权利要求37-57中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在第一CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在第一CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

59.根据权利要求37-58中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在第二CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在第二CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

60.根据权利要求37-59中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第一scFv位于或被包括在第一CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在第一CAR的胞外部分内的第一scFv。

61.根据权利要求37-60中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第二scFv位于或被包括在第二CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在第二CAR的胞外部分内的第二scFv。

62.根据权利要求58-61中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域,和/或所述第二CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域。

63.根据权利要求62所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR和/或所述第二CAR的间隔子是免疫球蛋白间隔子,任选地其中所述间隔子包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

64.根据权利要求62或权利要求63所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR和/或所述第二CAR的跨膜结构域包含CD28的跨膜部分,所述CD28任选地是人CD28。

65.根据权利要求62-64中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述第一CAR和/或所述第二CAR的间隔子结构域中的表位结合。

66.根据权利要求37-65中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合CD28或其部分,所述CD28任选地是人CD28。

67.根据权利要求37-66中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与Fc结构域中的表位结合,所述Fc结构域任选地是人IgG1Fc结构域。

68.根据权利要求37-67中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段特异性地结合。

69.根据权利要求37-68中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和/或所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。

70.根据权利要求37-69中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗

独特型抗体或其抗原结合片段是包含所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第一CAR的激动剂,和/或是包含所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第二CAR的激动剂。

71.根据权利要求70所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在呈可溶形式时是所述第一CAR和/或所述第二CAR的激动剂;和/或

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在固定至支持物或固定相时是所述第一CAR和/或所述第二CAR的激动剂,任选地其中所述支持物或固定相是板或珠。

72.根据权利要求37-71中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和/或所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合不被人BCMA或人BCMA-Fc阻断。

73.根据权利要求1-72中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链的免疫球蛋白恒定区的至少一部分。

74.根据权利要求73所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含重链恒定区,所述重链恒定区含有Fc区或所述Fc的包含所述CH2和CH3结构域的部分;和/或含有CL结构域的轻链恒定区。

75.根据权利要求73或权利要求74所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述免疫球蛋白恒定区源自IgG,任选IgG1。

76.根据权利要求74或权利要求75所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链恒定区来自κ轻链。

77.根据权利要求1-76中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是完整抗体或全长抗体。

78.根据权利要求1-36和73-77中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

79.根据权利要求1-36和73-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的轻链;或

含有SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的轻链。

80.根据权利要求1-9、12-36和73-79中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的轻链。

81.根据权利要求1-7、10-36和73-79中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的轻链。

82.根据权利要求37-77中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

重链,所述重链包含与SEQ ID NO:40或64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和

轻链,所述轻链包含与SEQ ID NO:41或65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

83.根据权利要求37-77和82中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

84.根据权利要求37-77、82和83中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:40或64所示的氨基酸序列的重链;和

含有SEQ ID NO:41或65所示的氨基酸序列的轻链。

85.根据权利要求37-77和82-84中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的轻链;或

含有SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的轻链。

86.根据权利要求37-47、50-77和82-85中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的轻链。

87.根据权利要求37-45、48-77和82-85中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的轻链。

88.根据权利要求1-76中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是抗原结合片段。

89.根据权利要求88所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段

选自Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fab'片段、Fv片段、scFv片段和单结构域抗体。

90.根据权利要求1-89中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是人源化的。

91.根据权利要求1-90中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是重组的。

92.根据权利要求1-91中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是单克隆的。

93.一种缀合物，所述缀合物包含根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或抗原结合片段以及异源分子或部分。

94.根据权利要求93所述的缀合物，其中所述异源分子或部分是标记。

95.根据权利要求94所述的缀合物，其中所述标记选自荧光染料、荧光蛋白、放射性同位素、发色团、金属离子、金颗粒、银颗粒、磁性颗粒、多肽、酶、链霉亲和素、生物素、发光化合物和寡核苷酸。

96.根据权利要求94所述的缀合物，其中所述异源分子或部分是蛋白质、肽、核酸或小分子，其任选地是或包含毒素或Strep-Tag。

97.一种编码根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段的重链和/或轻链的核酸分子。

98.根据权利要求97所述的核酸分子，所述核酸分子包含：

编码(i)SEQ ID NO:62所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列；以及

编码(iv)SEQ ID NO:63所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

99.根据权利要求97所述的核酸分子，所述核酸分子包含：

编码(i)SEQ ID NO:84所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列；以及

编码(iv)SEQ ID NO:85所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

100.根据权利要求97所述的核酸分子，所述核酸分子包含：

编码(i)SEQ ID NO:114所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:114所示的核苷酸的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列；以及

编码(iv)SEQ ID NO:115所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

101.根据权利要求97所述的核酸分子，所述核酸分子包含：

编码(i)SEQ ID NO:38所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:38所示的核苷酸序列具有至少90％序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列；以及

编码(iv)SEQ ID NO:39所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

102.根据权利要求97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:64所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:65所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

103.根据权利要求97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:86所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:87所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

104.根据权利要求97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:116所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:117所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

105.根据权利要求97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:40所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:40所示的核苷酸序列具有至少90％序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:41所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:41所示的核苷酸序列具有至少90％序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

106.根据权利要求97-105中任一项所述的核酸分子,其中编码所述重链和/或轻链的核苷酸序列包含信号序列。

107.根据权利要求97-106中任一项所述的核酸分子,其中所述一种或多种核酸分子包含选自SEQ ID NO:42、43、48、49、66-69、88-91和118-121的一种或多种核苷酸序列。

108.一种载体,所述载体包含根据权利要求97-107中任一项所述的核酸分子。

109.一种细胞,所述细胞包含根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据权利要求97-107中任一项所述的核酸分子或根据权利要求108所述的载体。

110.一种产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在合适的宿主细胞中表达由根据权利要求97-107中任一项所述的核酸分子或根据权利要求108所述的载体编码的所述重链和/或轻链以及回收或分离所述抗体。

111.一种产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在表达所述重链和/或轻链的条件下培养根据权利要求109所述的细胞以及回收或分离所述抗体。

112.一种通过根据权利要求110或权利要求111所述的方法产生的抗独特型抗体或其抗原结合片段。

113.一种组合物,所述组合物包含根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物或根据权利要求109所述的细

胞。

114.根据权利要求113所述的组合物,所述组合物进一步包含药学上可接受的赋形剂。

115.一种试剂盒,所述试剂盒包含根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物、和根据权利要求97-107中任一项所述的核酸分子以及任选的使用说明书。

116.根据权利要求115所述的试剂盒,所述试剂盒进一步包含用于固定所述抗独特型抗体或其抗原结合片段或所述缀合物的试剂或支持物,其中所述试剂或支持物是珠、柱、微孔、棒、过滤器、条带或可溶性寡聚链霉亲和素突变蛋白试剂。

117.一种检测靶抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括:

(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)检测与所述靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体。

118.根据权利要求117所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段与细胞结合或在细胞的表面上表达,并且(b)中的所述检测包括检测与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

119.根据权利要求118所述的方法,其中所述细胞在其表面上表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR。

120.一种检测包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的方法,所述方法包括:

(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)检测与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

121.根据权利要求120所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被直接或间接标记以用于检测。

122.一种从细胞群体选择细胞的方法,所述方法包括:

(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞群体或与靶抗体或其抗原结合片段结合的细胞与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)选择与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

123.根据权利要求122所述的方法,其中通过基于亲和力的分离来选择与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

124.根据权利要求123所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。

125.根据权利要求123或权利要求124所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是通过流式细胞术进行的。

126.根据权利要求123或权利要求124所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是通过磁激活细胞分选进行的。

127.根据权利要求123或权利要求124所述的方法,其中所述基于亲和力的分离包括亲和色谱法。

128.根据权利要求126或权利要求127所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆地结合或固定至支持物或固定相。

129.一种刺激细胞的方法,所述方法包括将包含表达含有靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞的输入组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物一起孵育,从而产生包含刺激的细胞的输出组合物。

130.一种产生细胞组合物的方法,所述方法包括:

(a)将编码CAR的一种或多种核酸分子引入细胞中,从而产生输入组合物;以及

(b)将所述输入组合物与特异性地结合所述CAR的抗原受体的根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物一起孵育,从而产生所述细胞组合物。

131.根据权利要求130所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过病毒转导、转座、电穿孔或化学转染将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

132.根据权利要求130或权利要求131所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过用包含所述一种或多种核酸分子的病毒载体转导将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中,任选地其中所述病毒载体是逆转录病毒载体或慢病毒载体。

133.根据权利要求130或权利要求131所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过用包含所述一种或多种核酸分子的转座子转座将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

134.根据权利要求130或权利要求131所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过包含所述一种或多种核酸分子的载体的电穿孔或转染将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

135.根据权利要求130-134中任一项所述的方法,所述方法进一步包括在步骤(a)之前激活所述细胞的步骤。

136.根据权利要求135所述的方法,其中激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与CD3的激动剂和任选的CD28的激动剂接触。

137.根据权利要求136所述的方法,其中激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与包含激动性抗CD3和抗CD28抗体的试剂接触。

138.根据权利要求130-137中任一项所述的方法,其中所述孵育在所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述CAR结合的条件下进行,从而诱导或调节所述输入组合物中的一个或多个细胞中的信号。

139.根据权利要求130-138中任一项所述的方法,其中所述细胞包含T细胞。

140.根据权利要求139所述的方法,其中所述T细胞包含CD4+和/或CD8+T细胞。

141.根据权利要求130-140中任一项所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至固体支持物,所述固体支持物任选地包含含有能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点的试剂或与所述试剂缀合。

142.根据权利要求130-140中任一项所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至可溶性试剂,所述可溶性试剂任选地是或包含能够与所述抗独特型抗体或

其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点。

143.根据权利要求141或权利要求142所述的方法,其中所述试剂包含链霉亲和素突变蛋白。

144.根据权利要求130-143中任一项所述的方法,其中所述孵育持续至少或约至少5分钟、10分钟、30分钟、60分钟、2小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或96小时。

145.根据权利要求130-144中任一项所述的方法,其中所述输入组合物包含作为所述组合物中总细胞的百分比的小于或小于约60%、小于或小于约50%、小于或小于约40%、小于或小于约30%,小于或小于约20%或小于或小于约10%的CAR表达细胞。

146.根据权利要求130-145中任一项所述的方法,其中:

与所述输入组合物中CAR表达细胞的数量相比,所述输出组合物中CAR表达细胞的数量增加大于1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍或更多;和/或

与所述输出组合物中的总细胞相比,所述组合物中CAR表达细胞的百分比增加大于10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%或更多。

147.根据权利要求130-146中任一项所述的方法,其中在所述引入和/或所述孵育之前,所述细胞未针对所述CAR表达细胞进行选择或富集。

148.一种纯化抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括:

(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)分离包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。

149.根据权利要求148所述的方法,其中通过基于亲和力的分离来分离包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。

150.根据权利要求149所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。

151.根据权利要求150所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是基于磁性的分离。

152.根据权利要求150所述的方法,其中所述基于亲和力的分离包括亲和色谱法。

153.一种耗尽细胞的方法,所述方法包括向受试者施用组合物,所述组合物包含特异性地结合靶抗体或其抗原结合片段的根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物,其中已向所述受试者施用表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞。

154.根据权利要求153所述的方法,其中所述耗尽经由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)发生。

155.根据权利要求117-154中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。

156.根据权利要求155所述的方法,其中所述单链片段是scFv。

157.根据权利要求117-156中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。

158.根据权利要求157所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

159.根据权利要求158所述的方法,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;并且所述scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

160.根据权利要求117-156中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

161.根据权利要求160所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

162.根据权利要求161所述的方法,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;并且所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

163.一种制品,所述制品包含根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物、以及使用所述抗独特型抗体或其抗原结合片段用于如下用途的说明书:

检测靶抗体或其抗原结合片段或包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR;和/或

从细胞群体选择或富集表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的工程化细胞;和/或刺激输入组合物,所述输入组合物包含表达含有所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞。

164.一种制品,所述制品包含:

结合试剂,所述结合试剂含有包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的胞外结构域,所述胞外结构域或其部分包含所述靶抗体或其抗原结合片段;以及

根据权利要求1-92中任一项所述的抗独特型抗体或抗原结合片段或根据权利要求93-96中任一项所述的缀合物。

165.根据权利要求164所述的制品,其中所述结合试剂是第一结合试剂,并且所述制品进一步包含第二结合试剂,所述第二结合试剂含有所述CAR的胞外结构域或其部分。

166.根据权利要求164或权利要求165所述的制品,其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂的CAR的胞外结构域或其部分是相同的。

167.根据权利要求164-166中任一项所述的制品,所述制品进一步包含使用所述结合试剂、任选所述第一结合试剂和所述第二结合试剂用于利用免疫测定来测定样品中与所述结合试剂结合的分子的存在或不存在的说明书,任选地其中所述免疫测定是桥式或夹心免疫测定,任选地其中所述样品来自已施用了细胞疗法的受试者,所述细胞疗法包含用含有靶抗体的CAR工程化的细胞,所述靶抗体是或其抗原结合片段。

168.根据权利要求164-167中任一项所述的制品,其中所述结合试剂、任选所述第一结合试剂和/或所述第二结合试剂被可检测地标记或能够产生可检测信号。

169.根据权利要求165-168中任一项所述的制品,其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂之一被附接至固体支持物或能够被附接至固体支持物,并且所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的另一者是可检测标记或能够产生可检测信号。

170.根据权利要求169所述的制品,其中所述制品进一步包含固体支持物,任选地其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂之一直接或间接与生物素连接,并且所述固体支持

物包括链霉亲和素包被的表面。

171.根据权利要求163-170中任一项所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。

172.根据权利要求171所述的制品,其中所述单链片段是scFv。

173.根据权利要求163-172中任一项所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。

174.根据权利要求173所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

175.根据权利要求174所述的制品,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;并且所述scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

176.根据权利要求163-172中任一项所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

177.根据权利要求176所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

178.根据权利要求177所述的制品,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;并且所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

# 针对BCMA靶向结合结构域的抗独特型抗体及相关组合物和方法

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求以下申请的优先权:2019年12月6日提交的标题为“针对BCMA靶向结合结构域的抗独特型抗体以及相关组合物和方法(ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES TO BCMA-TARGETED BINDING DOMAINS AND RELATED COMPOSITIONS AND METHODS)”的美国临时申请62/945,065、2020年8月5日提交的标题为“针对BCMA靶向结合结构域的抗独特型抗体以及相关组合物和方法(ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES TO BCMA-TARGETED BINDING DOMAINS AND RELATED COMPOSITIONS AND METHODS)”的美国临时申请63/061,763、以及2020年11月4日提交的标题为“针对BCMA靶向结合结构域的抗独特型抗体以及相关组合物和方法(ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES TO BCMA-TARGETED BINDING DOMAINS AND RELATED COMPOSITIONS AND METHODS)”的美国临时申请63/109,839,将其内容通过引用以其整体并入以用于所有目的。

通过引用并入序列表

[0002] 本申请是与电子格式的序列表一起提交申请的。序列表以2020年11月21日创建的名为735042017940SeqList.txt的文件提供,其大小为84,302字节。将在电子格式的序列表中的信息通过引用以其整体并入。

## 技术领域

[0003] 在一些方面,本公开文本涉及结合或识别抗BCMA抗体部分、特别是存在于重组受体(包括嵌合抗原受体(CAR))中的抗BCMA抗体部分的抗独特型抗体。本公开文本还涉及抗独特型抗体用于特异性地鉴定、检测或选择表达此类重组受体的细胞(如抗BCMA CAR T细胞)的用途。本公开文本还涉及抗独特型抗体用于特异性地激活此类细胞的用途。

## 背景技术

[0004] 多种方法可用于使用表达重组受体(如含有胞外抗体抗原结合结构域的嵌合抗原受体(CAR))的工程化细胞的过继细胞疗法。各种策略可用于评估此类细胞在体外或体内对受试者的活性。需要改善的方法来特别评估CAR表达细胞的活性。提供了满足此类需求的试剂、组合物和制品。

## 发明内容

[0005] 本文提供了结合或识别抗体及其抗原结合片段(包括抗体片段(如scFv))和含有所述抗体及其抗原结合片段的嵌合分子(如嵌合抗原受体)的药剂。还提供了含有此类药剂的组合物和制品,包括包含所述药剂所结合的表面(如固体表面,例如板或珠)的组合物和制品。本文提供的实施方案还包括此类药剂、组合物和制品的用途和使用方法,包括用于检测、使用、操纵和/或刺激细胞或用于含有或怀疑含有所述抗体或嵌合分子的疗法,如在所述检测、刺激或使用CAR表达细胞中。

[0006] 在一些实施方案中,本文提供了结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO:84或114所示的氨基酸序列的VH区;和含有SEQ ID NO:85或115所示的氨基酸序列的VL区。

[0007] 在一些实施方案中,本文还提供了结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:VH区,所述VH区含有与SEQ ID NO:84或114所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和VL区,所述VL区含有与SEQ ID NO:85或115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0008] 在一些实施方案中,本文还提供了结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:VH区,所述VH区含有包含SEQ ID NO:74或104所示的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:75或105所示的氨基酸序列的CDR-H2和包含SEQ ID NO:76或106所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区含有包含SEQ ID NO:81或111所示的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:82或112所示的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:83或113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0009] 在一些实施方案中,本文还提供了结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:VH区,所述VH区含有分别包含SEQ ID NO:84或114的氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和VL区,所述VL区含有分别包含SEQ ID NO:85或115的氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0010] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区包含含有SEQ ID NO:74或104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75或105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76或106所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且所述VL区包含含有SEQ ID NO:81或111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82或112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83或113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0011] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区包含含有SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列的CDR-H2和含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且所述VL区包含含有SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的CDR-L2和含有SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0012] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区包含SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列。

[0013] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区包含含有SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列的CDR-H2和含有SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且所述VL区包含含有SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的CDR-L2和含有SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0014] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。

[0015] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区包含与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH区包含与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0016] 在一些实施方案中,所述VH区包含SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述VH区包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。

[0017] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:重链,所述重链含有与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链,所述重链含有与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0018] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的轻链。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的轻链。

[0019] 在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。在一些任何此类实施方案中,所述单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。在一些任何此类实施方案中,所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的单链片段是单链可变片段(scFv)。在一些任何此类实施方案中,所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

[0020] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合或识别如下表位,其在所述靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。

[0021] 在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

[0022] 在一些任何此类实施方案中,所述scFv位于或被包括在CAR的胞外部分内。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在CAR的胞外部分内的scFv。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在CAR的胞外部分内的scFv。在一些任何此类实施方案中,所述CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域。在一些任何此类实施方

案中,所述间隔子是免疫球蛋白间隔子。在一些任何此类实施方案中,所述间隔子包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述跨膜结构域包含CD28的跨膜部分。在一些任何此类实施方案中,CD28的跨膜部分是人CD28。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述CAR的间隔子结构域中的表位结合。

[0023] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合CD28或其一部分。在一些任何此类实施方案中,所述CD28或其一部分是人CD28。

[0024] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与Fc结构域中的表位结合。在一些任何此类实施方案中,所述Fc结构域是人IgG1 Fc结构域。

[0025] 在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合或识别人BCMA。

[0026] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与另一种抗BCMA抗体交叉反应。在一些任何此类实施方案中,所述另一种抗BCMA抗体被包含在另一种CAR的胞外抗原结合结构域中。在一些任何此类实施方案中,所述另一种抗BCMA抗体包含:VH区,所述VH区含有与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的氨基酸序列;和/或VL区,所述VL区含有与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述另一种抗BCMA抗体包含与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的scFv。在一些任何此类实施方案中,所述另一种抗BCMA抗体包含具有1、2、3或4或更多个不同于SEQ ID NO:15所示的CDR-H1氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H1,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:16所示的CDR-H2氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H2,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:17所示的CDR-H3氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H3,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:22所示的CDR-L1氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L1,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:23所示的CDR-L2氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L2,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:24所示的CDR-L3氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L3。在一些任何此类实施方案中,所述另一种抗BCMA抗体结合或识别人BCMA的表位,所述表位与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合或识别的人BCMA的表位不同。

[0027] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是包含所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的CAR的激动剂。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在呈可溶形式时是CAR的激动剂。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在被固定至支持物或固定相时是CAR的激动剂。在一些任何此类实施方案中,所述支持物或固定相是板或珠。

[0028] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段特异性地结合。

[0029] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合亲和力(EC50)和/或解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、

6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。

[0030] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合不被人BCMA或人BCMA-Fc阻断。

[0031] 在一些实施方案中，本文还提供了结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含：含有SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列的VH区；和含有SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列的VL区。如本文所述，所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含靶抗体1或靶抗体2的VH和VL序列，或包含具有靶抗体1或靶抗体2的CDR的VH和VL。在一些实施方案中，结合或识别抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段结合第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段二者，其中所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段包含靶抗体1的VH和VL序列或包含靶抗体1内所含的CDR，并且所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段包含靶抗体2的VH和VL序列或包含靶抗体2内所含的CDR。

[0032] 在一些实施方案中，本文还提供了结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含：VH区，所述VH区含有与SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列；和VL区，所述VL区含有与SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列。如本文所述，所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含靶抗体1或靶抗体2的VH和VL序列，或包含具有靶抗体1或靶抗体2的CDR的VH和VL。在一些实施方案中，结合或识别抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段结合第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段二者，其中所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段包含靶抗体1的VH和VL序列或包含靶抗体1内所含的CDR，并且所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段包含靶抗体2的VH和VL序列或包含靶抗体2内所含的CDR。

[0033] 在一些实施方案中，本文还提供了结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含：VH区，所述VH区含有包含SEQ ID NO:28或52所示的氨基酸序列的CDR-H1、包含SEQ ID NO:29或53所示的氨基酸序列的CDR-H2和包含SEQ ID NO:30或54所示的氨基酸序列的CDR-H3；和VL区，所述VL区含有包含SEQ ID NO:35或59所示的氨基酸序列的CDR-L1、包含SEQ ID NO:36或60所示的氨基酸序列的CDR-L2和包含SEQ ID NO:37或61所示的氨基酸序列的CDR-L3。如本文所述，所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含靶抗体1或靶抗体2的VH和VL序列，或包含具有靶抗体1或靶抗体2的CDR的VH和VL。在一些实施方案中，结合或识别抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段结合第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段二者，其中所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段包含靶抗体1的VH和VL序列或包含靶抗体1内所含的CDR，并且所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段包含靶抗体2的VH和VL序列或包含靶抗体2内所含的CDR。

[0034] 在一些实施方案中，本文还提供了结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含：VH区，所述VH区含有分别包含SEQ ID NO:38或62的氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3；和VL区，所述VL区含有分别包含SEQ ID NO:39或63的氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。如本文

所述,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含靶抗体1或靶抗体2的VH和VL序列,或包含具有靶抗体1或靶抗体2的CDR的VH和VL。在一些实施方案中,结合或识别抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段结合第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段二者,其中所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段包含靶抗体1的VH和VL序列或包含靶抗体1内所含的CDR,并且所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段包含靶抗体2的VH和VL序列或包含靶抗体2内所含的CDR。

[0035] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含含有SEQ ID NO:28或52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29或53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30或54所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且所述VL区包含含有SEQ ID NO:35或59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36或60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37或61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0036] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含含有SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的CDR-H2和含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且所述VL区包含含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的CDR-L2和含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0037] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。

[0038] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含含有SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列的CDR-H2和含有SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且所述VL区包含含有SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的CDR-L2和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0039] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。

[0040] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含与SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;并且所述VL区包含与SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0041] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0042] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列;并且所述VL区包含SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列。

[0043] 在一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。在

一些任何此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段的VH区包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。

[0044] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:重链,所述重链含有与SEQ ID NO:40或64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:41或65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0045] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:重链,所述重链含有与SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链,所述重链含有与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0046] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO:40或64所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:41或65所示的氨基酸序列的轻链。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的轻链。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的轻链。

[0047] 在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段,在一些情况下,所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段,在一些情况下,所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。在一些任何此类实施方案中,所述单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。在一些任何此类实施方案中,所述柔性接头是或包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段(在一些情况下,所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段)是单链片段,所述单链片段是scFv。在一些任何此类实施方案中,所述scFv具有或包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段,在一些情况下,所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在所述CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段(例如scFv)。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在所述CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段(例如scFv)。在一些任何此类实施方案中,位于或被包括在所述CAR的胞外部分内的抗原结合结构域是scFv。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合或识别位于或被包括在所述CAR的胞外部分内的scFv。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段,在一些情况下,所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合如结合或识别人BCMA。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段,在一些情况下,所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片

段结合如特异性地结合或识别人BCMA。

[0048] 在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段,在一些情况下,所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段,在一些情况下,所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。在一些任何此类实施方案中,所述单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。在一些任何此类实施方案中,所述柔性接头是或包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段(在一些情况下,所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段)是scFv。在一些任何此类实施方案中,所述scFv具有或包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段,在一些情况下,所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在所述CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段(例如scFv)。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在所述CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段(例如scFv)。在一些任何此类实施方案中,位于或被包括在所述CAR的胞外部分内的抗原结合结构域是scFv。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合或识别位于或被包括在所述CAR的胞外部分内的scFv。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段,在一些情况下,所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合如结合或识别人BCMA。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段,在一些情况下,所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合如特异性地结合或识别人BCMA。

[0049] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合或识别如下表位,其在所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段(在一些情况下,所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段和/或所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段)的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合或识别如下表位,其在所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合或识别如下表位,其在所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。在一些实施方案中,在所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段中与在所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段中由所述抗独特型抗体或抗原结合片段识别的表位是相同或重叠的。

[0050] 在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段(例如scFv)被包含或被包括在CAR(也称为靶CAR)的胞外部分的抗原结合结构域内。在一些任何此类实施方案中,所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段和所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段(例如scFv)二者均分别被包含或被包括在第一CAR和第二CAR(也称为第一靶CAR和第二靶CAR)的胞外部分的抗原结合结构域内。在一些实施方案中,所述CAR包含含有抗原结合结构域的胞外结构域,所述抗原结合结构域是或包含抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段,如scFv,例如SEQ ID NO:13或SEQ ID NO:27所示;跨膜结构域,以及含有CD3ζ信号传导结构域和共刺激信号传导结构域的细胞内结构域。在一些实施方案中,所述共刺激信号传导结构域是

CD28的细胞内信号传导结构域，如来自人CD28。在一些实施方案中，所述共刺激信号传导结构域是4-1BB的细胞内信号传导结构域，如来自人4-1BB。在一些任何此类实施方案中，所述CAR或所述第一CAR和所述第二CAR单独地进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域，以及含有含ITAM的信号传导结构域和来自共刺激受体的细胞内信号传导结构域的细胞内信号传导区。在一些实施方案中，所述细胞内信号传导结构域是CD3ζ信号传导结构域。在一些实施方案中，所述来自共刺激受体的细胞内信号传导结构域是4-1BB信号传导结构域。在一些任何此类实施方案中，所述靶CAR的间隔子或所述第一CAR和/或所述第二CAR的单独的间隔子是免疫球蛋白间隔子。在一些实施方案中，所述间隔子包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述CAR的间隔子结构域中的表位结合。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述CAR的间隔子结构域中的表位结合。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述第一CAR和/或所述第二CAR的间隔子结构域中的表位结合。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述第一CAR和所述第二CAR的间隔子结构域中的表位结合。

[0051] 在一些任何此类实施方案中，所述CAR的跨膜结构域或所述第一CAR和/或所述第二CAR的单独的跨膜结构域包含CD28的跨膜部分。在一些实施方案中，所述跨膜结构域是人CD28的跨膜结构域。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合CD28或其部分，所述CD28任选地是人CD28。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合人CD28或其一部分。

[0052] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与Fc结构域中的表位结合。在一些任何此类实施方案中，所述Fc结构域是人IgG1 Fc结构域。

[0053] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是所述靶CAR(在一些情况下，所述第一靶CAR或所述第二CAR)的激动剂抗体。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是包含所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第一CAR的激动剂抗体，和/或是包含所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第二CAR的激动剂。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在呈可溶形式时是激动剂。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在固定至支持物或固定相时是激动剂，如其中所述支持物或固定相是板或珠。

[0054] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段特异性地结合。

[0055] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合亲和力(EC50)和/或解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体对于与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合和与所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合具有相同或基本上相同的结合亲和力(EC50)和/或解离常数。

[0056] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段、或所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和/或所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合不被人BCMA或人BCMA-Fc阻断。

[0057] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是人源化的。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是重组的。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是单克隆的。在一些任何此类实施方案中，所述独特型抗体或其抗原结合片段是抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中，所述抗原结合片段选自Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fab'片段、Fv片段、scFv片段和单结构域抗体。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含免疫球蛋白恒定区的至少一部分。在一些任何此类实施方案中，免疫球蛋白恒定区的所述至少一部分包含Fc区或所述Fc的包含所述CH2和CH3结构域的部分。在一些任何此类实施方案中，所述恒定区源自人IgG。

[0058] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链的免疫球蛋白恒定区的至少一部分。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含重链恒定区，所述重链恒定区含有Fc区或所述Fc的包含所述CH2和CH3结构域的部分；和/或含有CL结构域的轻链恒定区。在一些任何此类实施方案中，所述恒定区来自IgG，任选IgG1。在一些任何此类实施方案中，所述恒定区来自IgG1。在一些任何此类实施方案中，所述轻链恒定区来自κ轻链。

[0059] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是完整抗体或全长抗体。

[0060] 在一些实施方案中，本文还提供了缀合物，所述缀合物包含本文提供的任何实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段以及异源分子或部分。在一些任何此类实施方案中，所述异源分子或部分是标记。在一些任何此类实施方案中，所述标记选自荧光染料、荧光蛋白、放射性同位素、发色团、金属离子、金颗粒、银颗粒、磁性颗粒、多肽、酶、链霉亲和素、生物素、发光化合物和寡核苷酸。在一些任何此类实施方案中，所述异源分子或部分是蛋白质、肽、核酸或小分子，其任选地是或包含毒素或Strep-Tag。在一些任何此类实施方案中，所述异源分子或部分是Strep-Tag。

[0061] 在一些实施方案中，本文还提供了编码本文提供的任何实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段的重链和/或轻链的一种或多种核酸分子。在一些任何此类实施方案中，所述一种或多种核酸分子包含编码(i)SEQ ID NO:62所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列；以及编码(iv)SEQ ID NO:63所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

[0062] 在一些任何此类实施方案中，所述一种或多种核酸分子包含编码(i)SEQ ID NO:84所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列；以及编码(iv)SEQ ID NO:85所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

[0063] 在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种核酸分子包含编码(i)SEQ ID NO:114所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:114所示的核苷酸的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及编码(iv)SEQ ID NO:115所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

[0064] 在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种核酸分子包含编码(i)SEQ ID NO:38所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:38所示的核苷酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及编码(iv)SEQ ID NO:39所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

[0065] 在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种核酸分子包含编码(i)SEQ ID NO:64所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及编码(iv)SEQ ID NO:65所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

[0066] 在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种核酸分子包含编码(i)SEQ ID NO:86所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及编码(iv)SEQ ID NO:87所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

[0067] 在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种核酸分子包含编码(i)SEQ ID NO:116所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及编码(iv)SEQ ID NO:117所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

[0068] 在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种核酸分子包含编码(i)SEQ ID NO:40所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:40所示的核苷酸序列具有至少90%序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及编码(iv)SEQ ID NO:41所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:41所示的核苷酸序列具有至少90%序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

[0069] 在一些任何此类实施方案中,编码所述重链和/或轻链的核苷酸序列包含信号序列。

[0070] 在一些任何此类实施方案中,所述一种或多种核酸分子包含选自SEQ ID NO:42、43、48、49、66-69、88-91和118-121的一种或多种核苷酸序列。

[0071] 在一些实施方案中,本文还提供了一种载体,所述载体包含本文提供的任何实施方案的一种或多种核酸分子。

[0072] 在一些实施方案中,本文还提供了一种细胞,所述细胞包含本文提供的任何实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段、本文提供的任何实施方案的核酸分子或本文提供的任何实施方案的载体。

[0073] 在一些实施方案中，本文还提供了一种产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在合适的宿主细胞中表达由任一个此类实施方案的一种或多种核酸分子或任一个此类实施方案的载体编码的重链和/或轻链以及回收或分离所述抗体。

[0074] 在一些实施方案中，本文还提供了一种产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在表达所述重链和/或轻链的条件下培养任何此类实施方案的细胞以及回收或分离所述抗体。

[0075] 在一些实施方案中，本文还提供了一种通过任何此类实施方案的方法产生的抗独特型抗体或其抗原结合片段。

[0076] 在一些实施方案中，本文还提供了一种组合物，所述组合物包含任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段、任一个此类实施方案的缀合物或任一个此类实施方案的细胞。

[0077] 在一些任何此类实施方案中，所述组合物进一步包含药学上可接受的赋形剂。

[0078] 在一些实施方案中，本文还提供了一种试剂盒，所述试剂盒包含以下中的一种或多种：任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段、任一个此类实施方案的缀合物、任一个此类实施方案的一种或多种核酸分子以及任选的使用说明书。

[0079] 在一些任何此类实施方案中，所述试剂盒进一步包含用于固定所述抗独特型抗体或其抗原结合片段或所述缀合物的试剂或支持物，其中所述试剂或支持物是珠、柱、微孔、棒、过滤器、条带或可溶性寡聚链霉亲和素突变蛋白试剂。

[0080] 在一些实施方案中，本文还提供了一种检测靶抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括：(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段或任一个此类实施方案的缀合物接触；以及(b)检测与所述靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体。在一些任何此类实施方案中，所述靶抗体或其抗原结合片段与细胞结合或在细胞的表面上表达，并且(b)中的检测包括检测与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。在一些任何此类实施方案中，所述细胞在其表面上表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR。

[0081] 在一些实施方案中，本文还提供了一种检测包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的方法，所述方法包括：(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段或任一个此类实施方案的缀合物接触；以及(b)检测与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被直接或间接标记以用于检测。

[0082] 在一些实施方案中，本文还提供了一种从细胞群体选择细胞的方法，所述方法包括：(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞群体或与靶抗体或其抗原结合片段结合的细胞与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段或任一个此类实施方案的缀合物接触；以及(b)选择与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。在一些任何此类实施方案中，通过基于亲和力的分离来选择与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。在一些任何此类实施方案中，所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。在一些任何此类实施方案中，所

述基于亲和力的分离是通过流式细胞术进行的。在一些任何此类实施方案中，所述基于亲和力的分离是通过磁激活细胞分选进行的。在一些任何此类实施方案中，所述基于亲和力的分离包括亲和色谱法。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆地结合或固定至支持物或固定相。

[0083] 在一些实施方案中，本文还提供了一种刺激细胞的方法，所述方法包括将包含表达含有靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞的输入组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段或任一个此类实施方案的缀合物一起孵育，从而产生包含刺激的细胞的输出组合物。

[0084] 在一些实施方案中，本文还提供了一种产生细胞组合物的方法，所述方法包括：(a)将编码CAR的一种或多种核酸分子引入细胞中，从而产生输入组合物；和(b)将所述输入组合物与特异性地结合所述CAR的抗原受体的任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段或任一个此类实施方案的缀合物一起孵育，从而产生所述细胞组合物。

[0085] 在一些任何此类实施方案中，(a)中的所述引入包括通过病毒转导、转座、电穿孔或化学转染将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

[0086] 在一些任何此类实施方案中，(a)中的所述引入包括通过用包含所述一种或多种核酸分子的病毒载体转导将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中，任选地其中所述病毒载体是逆转录病毒载体或慢病毒载体。在一些实施方案中，所述病毒载体是逆转录病毒载体或慢病毒载体。

[0087] 在一些任何此类实施方案中，(a)中的所述引入包括通过用包含所述一种或多种核酸分子的转座子转座将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

[0088] 在一些任何此类实施方案中，(a)中的所述引入包括通过包含所述一种或多种核酸分子的载体的电穿孔或转染将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

[0089] 在一些任何此类实施方案中，所述方法进一步包括在步骤(a)之前激活所述细胞的步骤。在一些任何此类实施方案中，激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与CD3的激动剂和任选的CD28的激动剂接触。在一些任何此类实施方案中，激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与CD3的激动剂接触。在一些任何此类实施方案中，激活所述细胞的步骤进一步包括使所述细胞与CD28的激动剂接触。在一些任何此类实施方案中，激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与包含激动性抗CD3和抗CD28抗体的试剂接触。

[0090] 在一些任何此类实施方案中，所述孵育在所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述CAR结合的条件下进行，从而诱导或调节所述输入组合物中的一个或多个细胞中的信号。

[0091] 在一些任何此类实施方案中，所述细胞包含T细胞。在一些任何此类实施方案中，所述细胞包含CD4+或CD8+T细胞。

[0092] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至固体支持物，所述固体支持物任选地包含含有能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点的试剂或与所述试剂缀合。

[0093] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至可溶性试剂，所述可溶性试剂任选地是或包含能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点。在一些任何此类实施方案中，所述试剂包含链霉亲和素突变蛋白。在

一些任何此类实施方案中，所述孵育持续至少或约至少5分钟、10分钟、30分钟、60分钟、2小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或96小时。

[0094] 在一些任何此类实施方案中，所述输入组合物包含作为所述组合物中总细胞的百分比的小于或小于约60％、小于或小于约50％、小于或小于约40％、小于或小于约30％，小于或小于约20％或小于或小于约10％的CAR表达细胞。在一些任何此类实施方案中，与所述输入组合物中CAR表达细胞的数量相比，所述输出组合物中CAR表达细胞的数量增加大于1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍或更多。在一些任何此类实施方案中，与所述输出组合物中的总细胞相比，所述组合物中CAR表达细胞的百分比增加大于10％、20％、40％、50％、60％、70％、80％或更多。

[0095] 在一些任何此类实施方案中，在所述引入和/或所述孵育之前，所述细胞未针对所述CAR表达细胞进行选择或富集。

[0096] 在一些实施方案中，本文还提供了一种纯化抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括：(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与特异性地结合靶抗体或其抗原结合片段的任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段或任一个此类实施方案的缀合物接触；以及(b)分离包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。

[0097] 在一些任何此类实施方案中，通过基于亲和力的分离来分离包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。在一些任何此类实施方案中，所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。在一些任何此类实施方案中，所述基于亲和力的分离是基于磁性的分离。在一些任何此类实施方案中，所述基于亲和力的分离包括亲和色谱法。

[0098] 在一些实施方案中，本文还提供了一种耗尽细胞的方法，所述方法包括向受试者施用组合物，所述组合物包含特异性地结合靶抗体或其抗原结合片段的任一个此类实施方案的抗独特型抗体或其抗原结合片段或任一个此类实施方案的缀合物，其中所述受试者已被施用了表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞。

[0099] 在一些任何此类实施方案中，所述耗尽经由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)发生。

[0100] 在一些任何此类实施方案中，所述靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。在一些任何此类实施方案中，所述单链片段包含scFv。在一些任何此类实施方案中，所述单链片段是scFv。

[0101] 在一些任何此类实施方案中，所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。

[0102] 在一些任何此类实施方案中，所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv，并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。在一些任何此类实施方案中，所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列，并且所述scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

[0103] 在一些任何此类实施方案中，所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

[0104] 在一些任何此类实施方案中，所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv，并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。在一些任何此类实施方案中，所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列，并且所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

[0105] 在一些实施方案中，本文还提供了一种制品，所述制品包含任一个此类实施方案

的抗独特型抗体或其抗原结合片段或任一个此类实施方案的缀合物以及使用所述抗独特型抗体或其抗原结合片段用于以下用途的说明书:检测靶抗体或其抗原结合片段或包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR;和/或从细胞群体选择或富集表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的工程化细胞;和/或刺激包含表达含有所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞的输入组合物。

[0106] 在一些实施方案中,本文还提供了一种制品,所述制品包含:结合试剂,所述结合试剂含有包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的胞外结构域,所述胞外结构域或其部分包含所述靶抗体或其抗原结合片段;和任何此类实施方案的抗独特型抗体或抗原结合片段或任何此类实施方案的缀合物。

[0107] 在一些任何此类实施方案中,所述结合试剂是第一结合试剂,并且所述制品进一步包含第二结合试剂,所述第二结合试剂含有所述CAR的胞外结构域或其部分。在一些任何此类实施方案中,所述第一结合试剂和所述第二结合试剂的CAR的胞外结构域或其部分是相同的。

[0108] 在一些任何此类实施方案中,所述制品进一步包含使用所述结合试剂(任选所述第一结合试剂和所述第二结合试剂)用于利用免疫测定来测定样品中与所述结合试剂结合的分子的存在或不存在的说明书,任选地其中所述免疫测定是桥式或夹心免疫测定,任选地其中所述样品来自已施用了细胞疗法的受试者,所述细胞疗法包含用含有靶抗体的CAR工程化的细胞,所述靶抗体是或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中,所述结合试剂(任选所述第一结合试剂和/或所述第二结合试剂)被可检测地标记或能够产生可检测信号。在一些任何此类实施方案中,所述第一结合试剂和所述第二结合试剂之一被附接至固体支持物或能够被附接至固体支持物,并且所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的另一者是可检测标记或能够产生可检测信号。

[0109] 在一些任何此类实施方案中,所述制品进一步包含固体支持物,任选地其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂之一直接或间接与生物素连接,并且所述固体支持物包括链霉亲和素包被的表面。

[0110] 在一些任何此类实施方案中,所述靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。在一些任何此类实施方案中,所述单链片段包含scFv。在一些任何此类实施方案中,所述单链片段是scFv。

[0111] 在一些任何此类实施方案中,所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。

[0112] 在一些任何此类实施方案中,所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。在一些任何此类实施方案中,所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列,并且所述scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

[0113] 在一些任何此类实施方案中,所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

[0114] 在一些任何此类实施方案中,所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。在一些任何此类实施方案中,所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列,并且所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

## 附图说明

[0115] 图1描述了测定的结果,其中通过将抗ID抗体与用抗BCMA CAR 1工程化的T细胞一起孵育然后检测结合水平来评估抗ID抗体与用抗BCMA CAR 1工程化的T细胞特异性结合的能力。

[0116] 图2描述了测定的结果,其中通过将抗ID抗体与用抗BCMA CAR 1或抗BCMA CAR 2工程化的T细胞一起孵育然后检测结合水平来评估抗ID抗体与用抗BCMA CAR 1或抗BCMA CAR 2工程化的T细胞特异性结合的能力。还对抗BCMA CAR表达Jurkat细胞用重组BCMA-Fc(在其C末端与IgG的Fc区融合的可溶性人BCMA)融合多肽进行染色,所述融合多肽可以与抗BCMA CAR 1和抗BCMA CAR 2二者结合,作为对照。

[0117] 图3A和图3B描绘了测定的结果,其中通过将抗ID抗体与用抗BCMA CAR 1或抗BCMA CAR 2工程化的T细胞一起孵育然后检测结合水平来评估抗ID抗体与用抗BCMA CAR 1或抗BCMA CAR 2工程化的T细胞特异性结合的能力。还对细胞用重组BCMA-Fc进行染色,所述重组BCMA-Fc可以与抗BCMA CAR 1和抗BCMA CAR 2二者结合,作为对照。

[0118] 图4A和图4B描绘了测定的结果,其中评估了重组BCMA-Fc融合多肽是否能够阻断某些抗ID抗体(克隆15、19和23)与抗BCMA CAR 2的结合。

[0119] 图5A-图5C描绘了测定的结果,所述测定使用与可溶性抗ID抗体或板结合的抗ID抗体一起孵育的报告细胞系测试某些抗ID抗体对于T细胞刺激的激动活性。

[0120] 图6显示了在与板结合的抗ID抗体克隆16一起孵育以及用其刺激期间表达抗BCMA CAR 2的CAR T细胞的平均生长曲线(平均细胞汇合度%)。误差条表示平均值的标准误差。

## 具体实施方式

[0121] 本文提供了结合或识别抗BCMA抗体部分(如存在于包括嵌合抗原受体在内的重组受体中的抗BCMA抗体部分)的药剂,如抗独特型抗体和抗原结合片段。还提供了所述药剂以及包含此类药剂的组合物和制品的用途和使用方法,包括用于特异性地鉴定、选择和/或刺激和/或激活表达或包含所述靶抗体或片段的细胞(如抗BCMA CAR T细胞)。在一些实施方案中,所提供的抗体可以用于特异性地鉴定和/或选择各种抗BCMA CAR(如与细胞表面结合或在细胞表面上表达的CAR)并且还可以用于特异性地激活表达靶CAR的细胞(如CAR T细胞)。在一些实施方案中,提供了对被称为靶抗体1的抗BCMA抗体或由其衍生的抗体片段(包括含有源自此类抗体的可变区的抗体和CAR和/或含有其中所含的独特位的抗体)具有特异性的抗体。在一些实施方案中,提供了对被称为靶抗体2的抗BCMA抗体(包括含有源自此类抗体的可变区的抗体和CAR和/或含有其中所含的独特位的抗体)具有特异性的抗体或由其衍生的抗体片段。在一些实施方案中,提供了对被称为靶抗体1的抗BCMA抗体或由其衍生的抗体片段和被称为靶抗体2的抗BCMA抗体或由其衍生的抗体片段(包括含有源自此类抗体的可变区的抗体和CAR和/或含有其中所含的独特位的抗体)二者均具有特异性的抗体。

[0122] 在一些实施方案中,提供了对抗BCMA抗体或由其衍生的抗体片段(包括含有源自此类抗BCMA抗体的可变区的抗BCMA抗体和CAR和/或含有其中所含的独特位的抗BCMA抗体)具有特异性的抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,提供了对被称为靶抗体1的抗BCMA抗体或由其衍生的抗体片段(包括含有源自此类抗BCMA抗体的可变区的抗BCMA抗体和CAR和/或含有其中所含的独特位的抗BCMA抗体)具有特异性的抗独特型抗体。

在一些实施方案中,提供了对被称为靶抗体2的抗BCMA抗体或由其衍生的抗体片段(包括含有源自此类抗BCMA抗体的可变区的抗BCMA抗体和CAR和/或含有其中所含的独特位的抗BCMA抗体)具有特异性的抗独特型抗体。在一些实施方案中,提供了对被称为靶抗体1的抗BCMA抗体或由其衍生的抗体片段和被称为靶抗体2的抗BCMA抗体或由其衍生的抗体片段(包括含有源自此类抗BCMA抗体的可变区的抗BCMA抗体和CAR和/或含有其中所含的独特位的抗BCMA抗体)具有特异性的抗独特型抗体。

[0123] 所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段可以用作试剂以用于各种目的,包括基于以下能力:检测、鉴定(identity)或选择或鉴定存在于重组受体(例如CAR)中的靶抗体;激动含有或表达重组受体(例如CAR)的工程化细胞的活性,所述重组受体具有含有所述靶抗体的胞外结构域和胞内信号传导结构域;或拮抗或阻断例如存在于由工程化细胞表达的重组受体中的靶抗体与其靶抗原的结合。

[0124] 在一些实施方案中,提供了所述抗独特型抗体或其抗原结合片段以及包含此类抗独特型抗体或其抗原结合片段的组合物和制品的用途和使用方法,包括用于特异性地检测、鉴定或选择表达或包含靶抗体或片段的工程化细胞(如抗BCMA CAR T细胞),所述靶抗体或片段作为由所述工程化细胞表达或在其上表达的重组受体(例如CAR)的一部分。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段可以用于特异性地鉴定和/或选择各种抗BCMA CAR,如与细胞表面结合或在细胞表面上表达的CAR。

[0125] 在一些实施方案中,提供了所述抗独特型抗体或其抗原结合片段以及包含此类抗独特型抗体或其抗原结合片段的组合物和制品用于激动、刺激或激活含有或表达重组受体(例如CAR)的工程化细胞的用途和使用方法,所述重组受体具有含有抗BCMA靶抗体的胞外结构域和胞内信号传导结构域。在此类实施方案中,所提供的抗独特型抗体及其抗原结合片段包括这样的抗独特型抗体和抗原结合片段,其中与作为由所述工程化细胞表达或在其上表达的重组受体(例如CAR)的胞外结构域的一部分而包含的靶抗体或片段的结合导致对于刺激或激活所述工程化细胞的激动剂活性。在一些实施方案中,与构成所述重组受体的靶抗体的结合激活所述重组受体的信号传导结构域以启动或介导下游信号传导事件,从而导致细胞中转录因子或其他信号传导分子的激活、工程化细胞的增殖、细胞因子的产生、细胞毒性活性或其他效应子活性。在一些实施方案中,所提供的抗体可以用于特异性地刺激或激活表达靶CAR的细胞,如CAR T细胞。

[0126] 在一些方面,与用于检测、鉴定、操纵和/或影响和/或工程化表达CAR(特别是含有抗BCMA抗体scFv胞外结构域或含有所识别的独特型的CAR)的细胞的常规试剂相比,所提供的抗独特型抗体提供了优势。在某些可用的方法中,通过评估替代分子(如包含在编码所述CAR的构建体中的替代分子,因此充当其表达的间接或替代标记物)的存在或不存在或量来进行样品中CAR或CAR表达细胞的存在或不存在或量(和/或CAR的刺激或操纵)的检测。在某些可用的方法中,使用通用抗体试剂和/或对所评估的特定CAR不具有特异性(例如,与除抗原结合区之外可能具有相似或相同结构域的其他CAR相比)的试剂进行检测;例如,此类抗体可以包括识别来自CAR结构域所来源的物种的间隔子或其他结构域的抗物种抗体,和/或识别在靶标以及其他嵌合受体的间隔子区中使用的特定组分的抗体。在被设计用于检测CAR的存在或不存在的某些可用方法中,使用识别CAR恒定区的药剂进行检测。在一些情况下,针对替代分子或标记物的试剂也可能不适用于特异性地刺激或诱导工程化细胞(例如

CAR-T细胞)的激活,这是因为替代标记物或分子不含信号传导结构域或者因为信号传导结构域经由不同于CAR的信号传导途径介导信号传导。在某些可用的方法中,通过使用通用试剂(如抗CD3/CD28识别剂)刺激CAR细胞。某些方法使用CAR的重组配体(例如BCMA-Fc)。在某些情境下,此类方法可能不完全令人满意和/或具有某些限制。在一些情况下,CAR配体(如BCMA)可能并不总是完全有效,例如,对于在复杂的流式细胞术测试组套(panel)中使用或者在需要使用可溶性试剂进行激动剂介导的刺激的情况下。在一些情况下,CAR配体(如BCMA或BCMA-Fc)可能并不总是完全有效,例如因为所述配体对CAR的亲和力或其形式或结构对于某些用途可能不是最佳的,例如,对于在复杂的流式细胞术测试组套中使用或者在需要使用可溶性试剂进行激动剂介导的刺激的情况下。需要改善的方法和药剂,包括提供改善的灵敏度和/或选择性的那些。本文提供了满足此类需求的实施方案。

[0127] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体和抗原结合片段克服了这些挑战中的一个或多个,包括与靶抗体配体相关的低结合亲和力和/或与定向至靶抗体恒定区的抗体试剂相关的非特异性结合有关的挑战。所提供的抗独特型抗体包括这样的抗体,所述抗体提供对其靶抗体或其抗原结合片段同时具有高亲和力和特异性的试剂。在一些实施方案中,与BCMA-Fc和目前可用于检测或鉴定所述CAR的其他试剂相比,所提供的抗体对其靶抗体或抗原结合片段(如被称为靶抗体1的抗BCMA抗体和/或被称为靶抗体2的抗BCMA抗体)展现出更大的特异性和结合亲和力。

[0128] 在一些实施方案中,所提供的方法和用途包括体外或离体方法和用途,包括用于检测或定量含有抗BCMA靶抗体作为其胞外抗原结合结构域的一部分的重组受体(例如CAR)在工程化细胞上的表达,或用于评估或监测表达重组受体(例如CAR)的工程化细胞的功能活性的体外或离体方法和用途。在一些实施方案中,所提供的方法和用途包括体内方法和用途,其涉及将所述抗独特型抗体施用至已经或将要施用表达重组受体(例如CAR)的工程化细胞的受试者,其中抗BCMA靶抗体构成所述胞外结构域,包括用于检测受试者中的此类工程化细胞的方法;用于在受试者体内刺激或激活此类工程化细胞;或在一些情况下用于消融或杀伤受试者体内的工程化细胞的方法。此外,在某些实施方案中,本文提供的抗独特型抗体和抗原结合片段包括被选择为包含其靶抗体或抗原结合片段的嵌合受体的激动剂或拮抗剂的那些,从而允许选择性地检测、分离、消融和/或耗尽(例如,经由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性ADCC杀伤)和/或刺激或激活具有在其表面结合或表达的此类嵌合受体的细胞。本文提供了抗独特型抗体激动剂,其展现出刺激(如激活)CAR的活性,所述CAR含有源自被称为靶抗体1或靶抗体2的抗BCMA抗体的胞外结合结构域。本文提供了抗独特型抗体,其展现出使含有源自被称为靶抗体1或靶抗体2的抗BCMA抗体的胞外结合结构域的CAR失活的拮抗活性。在一些方面,此类抗体可以用于刺激和扩增特异性CAR表达细胞的方法中,包括用于产生和制备所述CAR表达细胞的过程中。

[0129] 在某些实施方案中,本文提供的抗独特型抗体及其抗原结合片段包括被选择作为在其胞外结构域中含有抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的重组受体(如CAR)的激动剂的那些,从而允许选择性地刺激或激活具有在其表面结合或表达的此类重组受体(例如CAR)的细胞。在一些实施方案中,本文提供了抗独特型抗体,所述抗独特型抗体是展现出刺激(如激活)含有源自抗BCMA抗体或其抗原结合片段的胞外结合结构域的CAR的活性的激动剂。在一些方面,此类抗体可以用于特异性地刺激或激活CAR表达细胞的方法。在特定实施方案

中,所述重组受体(例如CAR)含有信号传导结构域,当所述信号传导结构域被激动剂抗独特型抗体或抗原结合片段接合时能够诱导或激活工程化细胞中的一个或多个下游信号传导级联,从而导致转录因子的激活增加、效应基因表达的改变或靶蛋白的激活或抑制、细胞中的磷酸化或脱磷酸事件、或一种或多种效应子功能。例如,所提供的含有靶抗BCMA抗体的重组受体包括含有具有CD3ζ信号传导结构域以及在一些情况下具有共刺激信号传导结构域(例如4-1BB信号传导结构域)的胞内结构域的抗BCMA CAR。在一些实施方案中,所提供的激动剂抗独特型抗体或抗原结合片段与T细胞上表达的CAR的结合导致NF-κB激活、Nur77表达上调、炎性细胞因子产生(例如IFN-γ、TNF-α)的诱导、T细胞增殖和/或细胞毒性活性中的一种或多种。例如,如本文例子中所示,某些抗独特型抗体或抗原结合片段展现出对于刺激或激活含有靶抗BCMA抗原结合结构域的CAR-T细胞的激动剂活性,包括诱导Nur77表达(例如基于报告基因测定中的报告基因表达)、增殖和/或细胞因子的产生的能力。在一些实施方案中,刺激或激活的方法是重组受体(例如CAR)依赖性或特异性的。在一些实施方案中,刺激或激活重组受体(例如CAR)工程化细胞的方法可以在体外或离体进行,如在特异性地刺激和扩增CAR表达细胞的方法中进行,包括在用于产生和制备CAR表达细胞的过程中进行。在一些实施方案中,刺激或激活的方法可以在先前已接受重组受体(例如CAR)工程化细胞的施用的受试者体内进行,例如在受试者中观察或检测到工程化细胞的峰值数量时或之后的时间进行,如以在受试者体内重振或诱导所述工程化细胞的扩增。

[0130] 在某些实施方案中,本文提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段包括可用于诱导或消融受试者中的细胞杀伤的方法中的那些。在此类实施方案的特定方面,所述抗独特型抗体是含有Fc区的抗体,例如完整的全长抗体。一般而言,Fc区经由Fc与诸如在NK细胞上表达的激活Fc受体(例如FcγRIII)的结合来负责效应子功能,其可以介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体与在工程化细胞上表达的重组受体(例如CAR)的靶抗体的结合导致体内工程化细胞的消融和/或耗尽,例如,通过经由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)杀伤。在一些实施方案中,可以在向受试者施用所述抗独特型抗体或抗原结合片段之后,如在所述受试者已经接受所述工程化细胞的施用之后的时间,在体内进行此类方法或用途。在一些实施方案中,当在受试者中不再需要工程化细胞(例如CAR T细胞)的活性时,例如,在所述受试者展现出无法通过抗炎剂或类固醇解决的严重毒性的一种或多种体征或症状的情况,可以将所提供的抗独特型抗体施用至受试者。

[0131] 本文还提供了编码所提供的抗独特型抗体和片段的核酸,以及表达和用于产生这些抗独特型抗体和片段的细胞(如重组细胞)。还提供了制备和使用所述抗独特型抗体和片段的方法,以及表达或含有所述抗独特型抗体和片段的细胞。

[0132] 本申请中提及的所有出版物(包括专利文献、科学文章和数据库)出于所有目的通过引用以其整体并入,在程度上如同每个单独的出版物通过引用单独并入。如果本文所述的定义与通过引用并入本文的专利、申请、公开的申请和其他出版物中所述的定义相反或在其他方面不一致,则本文所述的定义优先于通过引用并入本文的定义。

[0133] 本文使用的章节标题仅用于组织目的,而不应解释为限制所描述的主题。

I.抗独特型抗体

[0134] 在一些方面,提供了结合分子,如结合或识别靶抗BCMA抗体部分的抗独特型抗体或其抗原结合片段(“抗ID”)。在一些实施方案中,所提供的抗体结合或识别多于一种靶抗

BCMA抗体或其抗原结合片段,如第一靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段上的部分以及第二靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段上的部分。

[0135] 在一些实施方案中,所述靶抗BCMA抗体或抗原结合片段是如发表的国际PCT申请号WO 2019/090003或WO 2016/090320中所述的抗体或抗原结合片段。

[0136] 在一些实施方案中,提供了结合或识别靶抗BCMA抗体的抗独特型抗体,所述靶抗BCMA抗体是或源自本文中被称为"靶抗体1"的靶抗体或者是其抗原结合片段。在一些实施方案中,所提供的抗体结合或识别靶抗体1或含有与靶抗体1相同的CDR的其抗原结合片段。靶抗体1是抗BCMA抗体,其包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的重链可变(VH)区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的轻链可变(VL)区。靶抗体1包含具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的重链互补决定区1(CDR-H1)、具有SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的CDR-H3;以及具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(CDR-L1)、具有SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,靶抗体1是单链片段,其中所述单链片段的VH区和VL区通过柔性接头连接,所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶抗体1是单链可变片段(scFv),其包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

[0137] 在一些实施方案中,提供了结合或识别靶抗BCMA抗体的抗独特型抗体,所述靶抗BCMA抗体是或源自本文中被称为"靶抗体2"的靶抗体或者是其抗原结合片段。在一些实施方案中,所提供的抗体结合或识别靶抗体2或含有与靶抗体2相同的CDR的其抗原结合片段。靶抗体2包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的重链可变(VH)区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的轻链可变(VL)区。靶抗体2包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3;以及具有SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,靶抗体2是单链片段,其中所述单链片段的VH区和VL区通过柔性接头连接,所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶抗体2是scFv,其包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

[0138] 在一些实施方案中,所提供的抗体识别第一靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述第一靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的重链可变(VH)区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的轻链可变(VL)区;并且识别第二靶抗BCMA抗体,所述第二靶抗BCMA抗体包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的重链可变(VH)区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的轻链可变(VL)区。在一些实施方案中,所提供的抗体识别第一靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述第一抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的CDR-H3,以及具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(CDR-L1)、具有SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR-L3;并且识别第二靶抗BCMA抗体,所述第二靶抗BCMA抗体包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3,以及具有SEQ

ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中，所提供的抗体识别第一靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段，所述第一靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段是包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列的单链可变片段(scFv)；并且识别第二靶抗BCMA抗体，所述第二靶抗BCMA抗体是包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的scFv。

[0139] 在一些实施方案中，所提供的抗体识别第二靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段，所述第二靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的重链可变(VH)区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的轻链可变(VL)区；并且识别第一靶抗BCMA抗体，所述第一靶抗BCMA抗体包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的重链可变(VH)区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的轻链可变(VL)区。在一些实施方案中，所提供的抗体识别第二靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段，所述第二抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的CDR-H3，以及具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的轻链互补决定区1(CDR-L1)、具有SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR-L3；并且识别第一靶抗BCMA抗体，所述第一靶抗BCMA抗体包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3，以及具有SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中，所提供的抗体识别第二靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段，所述第二靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段是包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列的单链可变片段(scFv)；并且识别第一靶抗BCMA抗体，所述第一靶抗BCMA抗体是包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的scFv。

[0140] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体包括结合或识别源自靶抗体1或靶抗体2的可变结构域(Fv)(如单链Fv(scFv))的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体结合或识别Fv的特定表位或区域，通常是包含一个或多个互补决定区的表位或区域。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体结合或识别与Fv互补位重叠的表位或区域。

[0141] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体包括与源自靶抗体1或靶抗体2的可变结构域(Fv)(如单链Fv(scFv))特异性地结合的抗体或其抗原结合片段。

[0142] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体包括结合或识别作为靶嵌合抗原受体(CAR)的胞外结构域的一部分而包含的抗BCMA部分的抗体。在一些实施方案中，所述靶CAR含有抗原结合部分，所述抗原结合部分含有所述靶抗体分子或所述靶抗体的抗原结合片段或部分。在一些实施方案中，所述靶CAR包含抗原结合结构域，所述抗原结合结构域是源自所述靶抗体的VH和VL链的scFv。在一些实施方案中，提供了结合或识别含有源自所述靶抗体的scFv的抗BCMA CAR的抗独特型抗体。下面将进一步描述CAR的示例性特征。在一些实施方案中，本文提供了结合或识别含有源自靶抗体1的scFv的抗BCMA CAR的抗独特型抗体。在一些实施方案中，本文提供了结合或识别含有源自靶抗体2的scFv的抗BCMA CAR的抗独特型抗体。在一些实施方案中，本文提供了结合或识别含有源自靶抗体1的scFv的抗BCMA CAR和含有源自靶抗体2的scFv的抗BCMA CAR二者的抗独特型抗体。

[0143] 本文的术语“抗体”是以最广义使用，并且包括多克隆和单克隆抗体，包括完整抗体和功能性(抗原结合)抗体片段，包括抗原结合的片段(Fab)片段、$F(ab')_2$片段、Fab'片段、Fv片段、重组IgG(rIgG)片段、单链抗体片段(包括单链可变片段(scFv))和单结构域抗体(例如，sdAb、sdFv、纳米抗体)片段。所述术语涵盖免疫球蛋白的基因工程化的和/或以其他方式修饰的形式，如胞内抗体、肽体(peptibody)、嵌合抗体、全人抗体、人源化抗体和异缀合抗体(heteroconjugate antibody)、多特异性(例如，双特异性)抗体、双抗体、三抗体和四抗体、串联二-scFv、串联三-scFv。除非另有说明，否则术语“抗体”应当理解为涵盖其功能性抗体片段。所述术语还涵盖完整或全长抗体，包括任何类别或亚类(包括IgG及其亚类、IgM、IgE、IgA和IgD)的抗体。

[0144] 术语“抗独特型抗体”是指识别、靶向和/或结合抗体的独特位(如抗原结合片段)的抗体(包括其抗原结合片段)。抗体的独特位可以包括但不必限于在抗体的一个或多个互补决定区(CDR)、抗体的可变区、和/或此类可变区和/或此类CDR的局部部分或部分、和/或前述的任何组合内的残基。CDR可以是选自以下中的一个或多个：CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、和CDR-L3。抗体的可变区可以是重链可变区、轻链可变区、或重链可变区和轻链可变区的组合。所述抗体的重链可变区和/或轻链可变区的部分片段或部分可以是如下片段，所述片段包括在所述抗体的重链可变区或轻链可变区内的2个或更多个、5个或更多个、或10个或更多个连续氨基酸，例如从约2至约100、从约5至约100、从约10至约100、从约2至约50、从约5至约50、或从约10至约50个连续氨基酸；所述独特位可以包括多个不连续的氨基酸延伸段。抗体的重链可变区和轻链可变区的部分片段可以是如下片段，所述片段包括在可变区内的2个或更多个、5个或更多个、或10个或更多个连续氨基酸，例如从约2至约100、从约5至约100、从约10至约100、从约2至约50、从约5至约50、或从约10至约50个连续氨基酸，并且在一些实施方案中含有一个或多个CDR或CDR片段。CDR片段可以是在CDR内的连续或非连续的2个或更多个、或5个或更多个氨基酸。因此，抗体的独特位可以是在抗体的重链可变区或轻链可变区内的、含有一个或多个CDR或一个或多个CDR片段的从约2至约100、从约5至约100、从约10至约100、从约2至约50、从约5至约50、或从约10至约50个连续氨基酸。在另一个实施方案中，所述独特位可以是位于抗体的可变区(例如CDR位点)的单个氨基酸。

[0145] 在一些实施方案中，所述独特位是抗体的可变部分内的任何单一抗原决定簇或表位。在一些情况下，它可以与抗体的实际抗原结合位点重叠，并且在一些情况下，它可以包含在抗体的抗原结合位点之外的可变区序列。在一些实施方案中，抗体的单独独特位的集合被称为这种抗体的“独特型”。

[0146] 术语“互补决定区”和“CDR”与“高变区”或“HVR”同义，在本领域中是已知的，是指抗体可变区内的非连续氨基酸序列，其赋予抗原特异性和/或结合亲和力。通常，在每个重链可变区中有三个CDR(CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)，并且在每个轻链可变区中有三个CDR(CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。“框架区”和“FR”在本领域中是已知的，是指重链和轻链的可变区的非CDR部分。通常，在每个全长重链可变区中有四个FR(FR-H1、FR-H2、FR-H3和FR-H4)，并且在每个全长轻链可变区中有四个FR(FR-L1、FR-L2、FR-L3和FR-L4)。

[0147] 给定CDR或FR的精确氨基酸序列边界可以使用许多熟知的方案中的任一种容易地确定，所述方案包括以下文献中所述的那些：Kabat等人(1991)，“Sequences of Proteins

of Immunological Interest,"第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD("Kabat"编号方案)、Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948("Chothia"编号方案)、MacCallum等人,J.Mol.Biol.262:732-745(1996),"Antibody-antigen interactions:Contact analysis and binding site topography,"J.Mol.Biol.262,732-745."("Contact"编号方案)、Lefranc MP等人,"IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,"Dev Comp Immunol,2003年1月;27(1):55-77("IMGT"编号方案)以及Honegger A和Plückthun A,"Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains:an automatic modeling and analysis tool,"J Mol Biol,2001年6月8日;309(3):657-70,("Aho"编号方案)。

[0148] 给定CDR或FR的边界可能根据用于鉴定的方案而变化。例如,Kabat方案是基于结构比对,而Chothia方案是基于结构信息。Kabat和Chothia方案的编号都基于最常见的抗体区域序列长度,其中通过插入字母(例如"30a")提供插入,并且在一些抗体中出现缺失。这两种方案将某些插入和缺失("插入缺失(indel)")放置在不同的位置,从而产生不同的编号。Contact方案基于对复杂晶体结构的分析,并且在许多方面与Chothia编号方案相似。

[0149] 下表1列出了分别通过Kabat、Chothia和Contact方案鉴定的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3以及CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3的示例性位置边界。对于CDR-H1,使用Kabat和Chothia两种编号方案列出残基编号。FR位于CDR之间,例如FR-L1位于CDR-L1与CDR-L2之间,依此类推。应注意,因为所示的Kabat编号方案在H35A和H35B处放置插入,所以当使用所示的Kabat编号惯例进行编号时,Chothia CDR-H1环的末端根据环的长度在H32与H34之间变化。

表1

| CDR | Kabat | Chothia | Contact |
|---|---|---|---|
| CDR-L1 | L24--L34 | L24--L34 | L30--L36 |
| CDR-L2 | L50--L56 | L50--L56 | L46--L55 |
| CDR-L3 | L89--L97 | L89--L97 | L89--L96 |
| CDR-H1 (Kabat编号[1]) | H31--H35B | H26--H32..34 | H30--H35B |
| CDR-H1 (Chothia编号[2]) | H31--H35 | H26--H32 | H30--H35 |
| CDR-H2 | H50--H65 | H52--H56 | H47--H58 |
| CDR-H3 | H95--H102 | H95--H102 | H93--H101 |

1-Kabat等人(1991),"Sequences of Proteins of Immunological Interest,"第5版Public Health Service,National Institutes of Health,马里兰州贝塞斯达

2-Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948

[0150] 因此,除非另有规定,否则应当理解给定抗体或其区域(如其可变区)的"CDR"或"互补决定区"或单独指定的CDR(例如,CDR-H1、CDR-H2)涵盖如由任何上述方案所定义的一个(或特定的)互补决定区。例如,在声明特定的CDR(例如,CDR-H3)含有给定$V_H$或$V_L$氨基酸序列中的相应CDR的氨基酸序列的情况下,应理解,这样的CDR具有在可变区内的相应CDR(例如,CDR-H3)的序列,如由任何上述方案所定义的。在一些实施方案中,规定了指定的CDR序列。

[0151] 同样,除非另有规定,否则应当理解给定抗体或其区域(如其可变区)的FR或单独指定的一个或多个FR(例如,FR-H1、FR-H2)涵盖如由任何已知方案所定义的一个(或特定的)框架区。在一些情形中,规定了用于鉴定特定的CDR、FR或者FR或CDR的方案,如通过Kabat、Chothia或Contact方法定义的CDR。在其他情况下,给出了CDR或FR的特定氨基酸序列。

[0152] 术语“可变区”或“可变结构域”是指抗体重链或轻链中参与抗体与抗原的结合的结构域。天然抗体的重链和轻链的可变结构域(分别为$V_H$和$V_L$)通常具有相似的结构,每个结构域包含四个保守的框架区(FR)和三个CDR。(参见,例如Kindt等人Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007))。单一$V_H$或$V_L$结构域可能足以赋予抗原结合特异性。此外,结合特定抗原的抗体可以使用来自结合所述抗原的抗体的VH或VL结构域来分离,以分别筛选互补的VL或VH结构域的文库。参见例如,Portolano等人,J.Immunol.150:880887(1993);Clarkson等人,Nature 352:624-628(1991)。

[0153] 所提供的抗体包括抗体片段。“抗体片段”是指不同于完整抗体的分子,其包含完整抗体中结合完整抗体所结合抗原的一部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv、Fab、Fab’、Fab’-SH、$F(ab')_2$;双抗体;线性抗体;单链抗体分子(例如scFv);和由抗体片段形成的多特异性抗体。在特定实施方案中,抗体是包含可变重链区和/或可变轻链区的单链抗体片段,如scFv。

[0154] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或者全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方案中,单结构域抗体是人单结构域抗体。

[0155] 抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞产生。在一些实施方案中,所述抗体是重组产生的片段,如包含天然不存在的排列的片段(如具有通过合成接头(例如,肽接头)连接的两个或更多个抗体区或链的那些),和/或可以不通过酶消化天然存在的完整抗体产生的片段。在一些方面,所述抗体片段是scFv。

[0156] “人源化”抗体是如下抗体,其中所有或基本上所有CDR氨基酸残基都源自非人CDR并且所有或基本上所有框架区(FR)氨基酸残基都源自人FR。在一些实施方案中,非人抗体(例如鼠抗体)的人源化形式是嵌合抗体,其含有源自非人免疫球蛋白的最小序列。在某些实施方案中,所述人源化抗体是来自非人物种的抗体,其具有来自非人物种的一个或多个互补决定区(CDR)和来自人免疫球蛋白分子的框架区(FR)。在一些实施方案中,人源化抗体任选地可以包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。非人抗体的“人源化形式”是指非人抗体的变体,其已经经历人源化以通常降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,衍生出CDR残基的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。(参见,例如Queen,美国专利号5,585,089和Winter,美国专利号5,225,539。)此类嵌合单克隆抗体和人源化单克隆抗体可以通过本领域已知的重组DNA技术产生。

[0157] 在某些实施方案中,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体的重链可变区的残基被来自非人物种(供体抗体)(如具有所需特异性、亲和力和/或能力的小鼠、大鼠、兔、或非人灵长类动物)的重链可变区的残基替代。在一些情况下,人免疫球蛋白的FR残基被相应的非人残基替代。此外,人源化抗体可以包含在受体抗体或供体抗体中未

发现的残基。在一些实施方案中，编码人可变重链和可变轻链的核酸序列被改变为由编码非人抗体序列(供体序列)中的相应CDR的序列替代人(受体)序列的一个或多个CDR序列。在一些实施方案中，所述人受体序列可以包含源自不同基因的FR。在特定实施方案中，人源化抗体将含有至少一个、通常两个可变结构域的基本上全部，其中全部或基本上全部的高变环与非人免疫球蛋白的高变环对应，并且全部或基本上全部的FR是人免疫球蛋白序列的那些FR。在一些实施方案中，所述人源化抗体任选地也将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分，典型地是人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。关于进一步的细节，参见例如Jones等人，Nature 321:522-525(1986)；Riechmann等人，Nature 332:323-329(1988)；和Presta，Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。还参见例如，Vaswani和Hamilton，Ann.Allergy，Asthma&Immunol.1:105-115(1998)；Harris，Biochem.Soc.Transactions 23:1035-1038(1995)；Hurle和Gross，Curr.Op.Biotech.5:428-433(1994)；以及美国专利号6,982,321和7,087,409，将其通过引用并入本文。在一些实施方案中，本文提供了人源化抗独特型抗体。

[0158] 在特定实施方案中，抗体(例如，抗独特型抗体)是人源化的。在某些实施方案中，所述抗体通过任何合适的已知方法进行人源化。例如，在一些实施方案中，人源化抗体可以在其中引入一个或多个非人来源的氨基酸残基。这些非人氨基酸残基通常称为“输入”残基，其通常取自“输入”可变结构域。在特定实施方案中，人源化可以基本上通过遵循Winter和同事的方法(Jones等人(1986)Nature 321:522-525;Riechmann等人(1988)Nature 332:323-327;Verhoeyen等人(1988)Science 239:1534-1536)来进行，如通过用高变区序列取代人抗体的相应序列来进行。因此，此类“人源化”抗体是嵌合抗体(美国专利号4,816,567)，其中显著少于完整的人可变结构域用来自非人物种的相应序列取代。在某些实施方案中，所述人源化抗体是这样的人抗体，其中一些高变区残基和可能的一些FR残基被来自啮齿动物抗体中类似位点的残基取代。

[0159] 随后可以通过将所提供的可变重链和可变轻链序列连接至人恒定重链区和恒定轻链区来获得编码全长抗体的序列。合适的人恒定轻链序列包括κ和λ恒定轻链序列。合适的人恒定重链序列包括IgG1、IgG2和编码具有所提供的免疫刺激特性的IgG1突变体的序列。此类突变体可能具有降低的激活补体和/或抗体依赖性细胞毒性的能力，并描述于美国专利号5,624,821、WO 99/58572、美国专利号6,737,056中。合适的恒定重链还包括IgG1，其包含取代物E233P、L234V、L235A、A327G、A330S、P331S和残基236的缺失。在另一个实施方案中，所述全长抗体包含IgA、IgD、IgE、IgM、IgY或IgW序列。

[0160] 合适的人供体序列可以通过以下方法来确定：将由小鼠供体序列编码的肽序列与由一组人序列编码的肽序列，优选地与人种系免疫球蛋白基因或成熟抗体基因编码的序列进行序列比较。具有高序列同源性，优选具有确定的最高同源性的人序列可以充当用于人源化过程的受体序列。

[0161] 除了将人CDR更换为小鼠CDR之外，还可以在人供体序列中进行进一步的操作以获得编码具有优化特性(如抗原的亲和力)的人源化抗体的序列。

[0162] 此外，改变的人受体抗体可变结构域序列也可以被提供为编码对应于非人供体序列的轻链可变区的位置4、35、38、43、44、46、58、62、64、65、66、67、68、69、73、85、98和重链可变区的位置2、4、36、39、43、45、69、70、74、75、76、78、92的一个或多个氨基酸(根据Kabat编

号系统)(Carter和Presta,美国专利号6,407,213)

[0163] 在特定实施方案中,通常希望抗体在人源化后保留对抗原的高亲和力和其他有利的生物学特性。在一些实施方案中,为了达到此目的,通过使用亲本序列和人源化序列的三维模型分析亲本序列和各种概念性人源化产物的过程来制备人源化抗体。普遍可获得免疫球蛋白三维模型,这是本领域技术人员所熟悉的。还可获得说明和展示所选候选免疫球蛋白序列的可能三维构象结构的计算机程序。通过检查这些展示容许分析残基在候选免疫球蛋白序列发挥功能中的可能作用,即分析影响候选免疫球蛋白结合其抗原的能力的残基。通过这种方式,可以从受体序列和输入序列中选出FR残基并组合,从而得到希望的抗体特征,诸如对一种或多种靶抗原的亲和力增加。通常,高变区残基直接且最实质地涉及对抗原结合的影响。

[0164] 在特定实施方案中,用于制备人源化抗体的人轻链和重链二者可变结构域的选择对于降低抗原性可能是重要的。根据所谓的"最佳拟合"方法,用啮齿动物抗体的可变结构域序列对已知人可变结构域序列的整个文库进行筛选。然后接受与啮齿动物最接近的人序列作为人源化抗体的人框架。参见例如,Sims等人(1993)J.Immunol.151:2296;Chothia等人(1987)J.Mol.Biol.196:901。另一种方法使用由特定轻链或重链亚组的所有人抗体的共有序列衍生的特定框架。相同框架可用于若干种不同的人源化抗体。参见例如,Carter等人(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4285;Presta等人(1993)J.Immunol.,151:2623。

[0165] 所提供的抗体包括人抗体。"人抗体"是具有与人或人细胞或者利用人抗体库或其他人抗体编码序列(包括人抗体文库)的非人来源产生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。所述术语不包括包含非人抗原结合区的非人抗体的人源化形式,如所有或基本上所有CDR都是非人的那些。

[0166] 人抗体可以通过将免疫原施用至转基因动物来制备,所述转基因动物已经被修饰以响应于抗原激发产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有人免疫球蛋白基因座的全部或部分,其替代内源免疫球蛋白基因座,或者其存在于在染色体外或随机整合到动物的染色体中。在此类转基因动物中,通常已经使内源性免疫球蛋白基因座失活。人抗体也可以源自人抗体文库,包括噬菌体展示和无细胞文库,其含有源自人库的抗体编码序列。

[0167] 所提供的抗体包括单克隆抗体,包括单克隆抗体片段。如本文所用的术语"单克隆抗体"是指从基本上同质抗体的群体(即,构成所述群体的单独抗体是相同的,但含有天然存在的突变或在单克隆抗体制剂的产生期间产生的可能变体除外,此类变体通常以少量存在)获得或在所述群体内的抗体。与通常包括针对不同表位的不同抗体的多克隆抗体制剂相反,单克隆抗体制剂的每种单克隆抗体针对抗原上的单一表位。所述术语不应解释为需要通过任何特定方法产生抗体。单克隆抗体可以通过多种技术制备,包括但不限于从杂交瘤产生、重组DNA方法、噬菌体展示和其他抗体展示方法。

A.针对靶抗体2的抗ID抗体

[0168] 在一些实施方案中,提供了结合或识别靶抗BCMA抗体的抗独特型抗体,所述靶抗BCMA抗体是或源自靶抗体2或者是其抗原结合片段,如上所述。在一些实施方案中,提供了与靶抗BCMA抗体特异性地结合的抗独特型抗体,所述靶抗BCMA抗体是或源自靶抗体2。下面提供了示例性抗体或抗原结合片段。

[0169] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别如下抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性;和VL区,所述VL区与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别如下抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

[0170] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别如下靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性;和VL区,所述VL区与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别如下靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

[0171] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别scFv,所述scFv包含与SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别具有SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的scFv。

[0172] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别如下靶抗BCMA抗体,所述靶抗BCMA抗体是scFv,所述scFv包含与SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别具有SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的scFv。

[0173] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别如下抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3;以及具有SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0174] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别如下靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3;以及具有SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0175] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别具有与靶抗体2相同独特型的抗体或其抗原结合片段。

[0176] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体与如下抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体2,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的VL区。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗

体与如下抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体2,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VL区。

[0177] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别竞争结合靶抗体2的抗体或其抗原结合片段。

[0178] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别包含在CAR内的靶抗体2的抗原结合结构域。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别如包含在CAR内的靶抗体2的抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述CAR是如第II部分所述的任何CAR。

[0179] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区与SEQ ID NO:84所示的VH区氨基酸序列具有至少90%序列同一性,如与其至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性;和VL区,所述VL区与SEQ ID NO:85所示的VL区氨基酸序列具有至少90%序列同一性,如与其至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。

[0180] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:79所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:80所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0181] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含分别含有SEQ ID NO:84所示的VH区氨基酸序列内所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;以及分别含有SEQ ID NO:85所示的VL区氨基酸序列内所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0182] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列,其分别与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。

[0183] 在一些任何此类实施方案中，所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4，其分别与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90％序列同一性。在一些实施方案中，所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列，其分别与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。在一些实施方案中，所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。

[0184] 在一些任何此类实施方案中，所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列，其分别与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90％序列同一性，并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4，其分别与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90％序列同一性。在一些实施方案中，所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列，其分别与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性，并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列，其分别与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。在一些实施方案中，所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性，并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。

[0185] 在一些任何此类实施方案中，所述VH区具有SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述VL区具有SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述VH区具有SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列，并且所述VL区具有SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列。

[0186] 在一些实施方案中，对靶抗体2或其抗原结合片段具有特异性的抗独特型抗体是单链抗体片段，如scFv或双抗体。在一些实施方案中，单链抗体包括连接两个抗体结构域或区域(如可变重链(VH)区和可变轻链(VL)区)的一个或多个接头。所述接头通常是肽接头，例如，柔性和/或可溶肽接头。所述接头包括富含甘氨酸和丝氨酸和/或在一些情况下苏氨酸的那些接头。在一些实施方案中，所述接头还包括带电荷的残基(如赖氨酸和/或谷氨酸)，其可以改善溶解性。在一些实施方案中，所述接头还包括一个或多个脯氨酸。

[0187] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体是完整抗体或全长抗体。在一些实施方案中，所述抗ID可以含有免疫球蛋白恒定区的至少一部分，如一个或多个恒定区结构域。在一些实施方案中，所述恒定区包括轻链恒定区(CL)和/或重链恒定区1(CH1)。在一些实施方案中，所述抗ID包含CH2和/或CH3结构域，如Fc区。在一些实施方案中，所述Fc区是人IgG(如IgG1或IgG4)的Fc区。

[0188] 在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含在SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列内所含的重链恒定区和在SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列内所含的轻链恒定区。在一些实施方案中，提供了抗独特型抗

体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含与在SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列内所含的重链恒定区具有至少90％序列同一性的重链恒定区和与在SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列内所含的轻链恒定区具有至少90％序列同一性的轻链恒定区。

[0189] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链,所述重链含有与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列。

[0190] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的轻链。

[0191] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区与SEQ ID NO:114所示的VH区氨基酸序列具有至少90％序列同一性,如与其至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性;和VL区,所述VL区与SEQ ID NO:115所示的VL区氨基酸序列具有至少90％序列同一性,如与其至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性。

[0192] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:108所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:109所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0193] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含分别含有SEQ ID NO:114所示的VH区氨基酸序列内所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;以及分别含有SEQ ID NO:115所示的VL区氨基酸序列内所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0194] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90％序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91％、92％、93％、

94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。在一些实施方案中，所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。

[0195] 在一些任何此类实施方案中，所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4，其分别与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90％序列同一性。在一些实施方案中，所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列，其分别与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。在一些实施方案中，所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。

[0196] 在一些任何此类实施方案中，所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列，其分别与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90％序列同一性，并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4，其分别与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90％序列同一性。在一些实施方案中，所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列，其分别与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性，并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列，其分别与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。在一些实施方案中，所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性，并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。

[0197] 在一些任何此类实施方案中，所述VH区具有SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述VL区具有SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述VH区具有SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列，并且所述VL区具有SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。

[0198] 在一些实施方案中，对靶抗体2或其抗原结合片段具有特异性的抗独特型抗体是单链抗体片段，如scFv或双抗体。在一些实施方案中，所述单链抗体包括连接两个抗体结构域或区域(如可变重链(VH)区和可变轻链(VL)区)的一个或多个接头。所述接头通常是肽接头，例如，柔性和/或可溶肽接头。所述接头包括富含甘氨酸和丝氨酸和/或在一些情况下苏氨酸的那些接头。在一些实施方案中，所述接头还包括带电荷的残基(如赖氨酸和/或谷氨酸)，其可以改善溶解性。在一些实施方案中，所述接头还包括一个或多个脯氨酸。

[0199] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体是完整抗体或全长抗体。在一些实施方案中，所述抗ID可以含有免疫球蛋白恒定区的至少一部分，如一个或多个恒定区结构域。在一些实施方案中，所述恒定区包含轻链恒定区(CL)和/或重链恒定区1(CH1)。在一些实施方案中，所述抗ID包含CH2和/或CH3结构域，如Fc区。在一些实施方案中，Fc区是人IgG(如IgG1或

IgG4)的Fc区。

[0200] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含在SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列内所含的重链恒定区和在SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列内所含的轻链恒定区。在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含与在SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列内所含的重链恒定区具有至少90%序列同一性的重链恒定区和与在SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列内所含的轻链恒定区具有至少90%序列同一性的轻链恒定区。

[0201] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链,所述重链含有与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

[0202] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的轻链。

[0203] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是抗原结合片段。在一些实施方案中,所述抗原结合片段选自抗原结合的片段(Fab)片段、F(ab')$_2$片段、Fab'片段、Fv片段、单链可变片段(scFv)或单结构域抗体。

[0204] 因此,提供了单链抗体片段(如scFv和双抗体),特别是人单链片段,通常包含连接两个抗独特型抗体结构域或区域(如$V_H$和$V_L$结构域)的一个或多个接头。接头通常是肽接头,例如柔性和/或可溶性肽接头,例如富含甘氨酸和丝氨酸的一种肽接头。

[0205] 在一些方面,富含甘氨酸和丝氨酸(和/或苏氨酸)的接头包含至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的此类氨基酸。在一些实施方案中,它们包含至少或至少约50%、55%、60%、70%或75%的甘氨酸、丝氨酸和/或苏氨酸。在一些实施方案中,所述接头基本上完全由甘氨酸、丝氨酸和/或苏氨酸组成。接头的长度通常在约5个与约50个氨基酸之间,通常在为或约10个与为或约30个之间,例如10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个或30个,并且在一些例子中长度在10个与25个氨基酸之间。

[0206] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体包括分离的抗体。在一些实施方案中,所述抗ID是人源化的、重组的和/或单克隆的。在一些实施方案中,所述抗ID是人的。

[0207] 在一些实施方案中,对靶抗体2具有特异性的抗独特型抗体是人源化的。在特定实施方案中,对靶抗体2具有特异性的人源化抗独特型抗体的所有或基本上所有CDR氨基酸残基源自抗靶抗体2非人CDR。在一些实施方案中,对靶抗体2具有特异性的人源化抗独特型抗体包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。

[0208] 在某些实施方案中,对靶抗体2具有特异性的人源化抗独特型抗体包括人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体的重链可变区的残基被来自对靶抗体2具有特异性的非人抗独特型抗体的重链可变区的残基取代。在一些情况下,人免疫球蛋白的FR残基被相应的非人残基替代。在一些实施方案中,所述人源化抗体含有源自不同基因的FR。在一些实施方案中,对靶抗体2具有特异性的人源化抗独特型抗体包含免疫球蛋白恒定区(Fc)、通常是人免疫球蛋白的恒定区的至少一部分。

[0209] 在一些实施方案中，对靶抗体2具有特异性的人源化抗独特型抗体包含改变的人受体抗体可变结构域序列，其已经被提供为编码对应于非人供体序列的轻链可变区的位置4、35、38、43、44、46、58、62、64、65、66、67、68、69、73、85、98(Kabat)和重链可变区的位置2、4、36、39、43、45、69、70、74、75、76、78、92(Kabat)的一个或多个氨基酸残基。

[0210] 在某些实施方案中，对靶抗体2具有特异性的抗独特型抗体是人源化的。在特定实施方案中，对靶抗体2具有特异性的人源化抗独特型抗体含有对靶抗体2具有特异性的非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3区中的一个或多个。在一些实施方案中，所述CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3区中的一些或全部含有一个或多个氨基酸修饰。在一些实施方案中，所述修饰是用人残基替代非人氨基酸残基。在特定实施方案中，将所述CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3中的一个或多个插入人抗体的FR区中。在特定实施方案中，所述非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3分别是具有SEQ ID NO:84和85所示的氨基酸序列的VH和VL区的CDR。在特定实施方案中，所述非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3分别是具有SEQ ID NO:114和115所示的氨基酸序列的VH和VL区的CDR。在一些实施方案中，将对靶抗体2具有特异性的抗独特型抗体的所有CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3插入人抗体的FR中。在特定实施方案中，所述CDR和FR区是如通过Kabat、Chothia、AbM和/或Contact方案鉴定的区域。

[0211] 在特定实施方案中，将对靶抗体2具有特异性的非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3中的一个或多个或全部插入人抗体的框架区中。在某些实施方案中，所述人抗体是IgA、IgD、IgE、IgG和IgM抗体。在特定实施方案中，所述人抗体是人IgA、IgD、IgE、IgG和IgM的亚类之一，例如人$IgG_1$、$IgG_2$、$IgG_3$、$IgG_4$、$IgA_1$或$IgA_2$。在一些实施方案中，将对靶抗体2具有特异性的非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3中的一个或多个或全部插入来自和/或源自人抗体的抗原结合区的框架区中。在某些实施方案中，所述抗原结合片段来自和/或源自人IgA、IgD、IgE、IgG和IgM抗体。不同类别的人免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是熟知的，并且通常描述于例如Abbas等人Cellular and Mol.Immunology，第4版(W.B.Saunders,Co.,2000)中。在一些实施方案中，所述人抗体或其抗原结合片段可以是较大的融合分子的一部分，所述融合分子通过所述人抗体与一种或多种其他蛋白质或肽的共价或非共价缔合形成。

[0212] 在一些实施方案中，将对靶抗体2具有特异性的非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3中的一个或多个或全部插入具有全部或部分Fc区的人抗体或其抗原结合片段的框架区中。在某些实施方案中，对靶抗体2具有特异性的人源化抗独特型抗体包含Fc区的全部或一部分。在一些实施方案中，所述Fc区在一个或多个氨基酸位置具有一个或多个修饰，例如氨基酸修饰(例如取代、插入或缺失)。可以进行此类修饰，例如以改善半衰期、改变与一种或多种类型的Fc受体的结合和/或改变效应子功能。在一些实施方案中，相对于未修饰的Fc区，经修饰的Fc区具有改变的(例如，降低的)与FcαR的结合。在某些实施方案中，所述人源化抗独特型抗体包含经修饰的Fc区的全部或一部分，相对于未修饰的Fc区，所述经修饰的Fc区具有改变的(例如，降低的)与Fc受体的结合。改变其与Fc受体结合的Fc修饰的非限制性例子描述于例如美国专利号7,217,797和7,732,570;以及美国申请号US 2010/0143254和2010/0143254。

[0213] 在一些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的解离常数($K_D$)和/或解离速率($k_{off}$)低于结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的其他试剂的解离常数和/或解离速率。在一些实施方案中，所述解离常数和/或解离速率低于BCMA-Fc的解离常数和/或解离速率。在一些实施方案中，所述解离常数和解离速率低于BCMA-Fc的解离常数和解离速率。在一些方面，较低的解离常数允许在靶抗体2、其抗原结合片段或含有其的CAR与所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段之间较强的结合。在一些方面，较低的解离速率允许在靶抗体2、其抗原结合片段或含有其的CAR与所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段之间较长的结合。因此，在一些方面，相对于使用其他试剂(例如，BCMA-Fc)，靶抗体2、其抗原结合片段或含有其的CAR的检测、分离和刺激通过使用所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段而改善。例如，使用所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段可以允许与靶抗体2、其抗原结合片段或含有其的CAR稳定结合，从而改善这些靶标的检测和分离。类似地，这种使用可以允许更持久地刺激所述CAR和被工程化为表达所述CAR的细胞，例如T细胞。

[0214] 在某些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的结合亲和力(EC50)和/或解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM，如在为或约1nM与为或约15nM之间，例如，在为或约5nM与为或约10nM之间。在某些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的EC50是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM，如在为或约1nM与为或约15nM之间，例如，在为或约5nM与为或约10nM之间。在某些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM，如在为或约1nM与为或约15nM之间，例如，在为或约5nM与为或约10nM之间。在某些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段与和所述靶抗BCMA部分无关的部分的结合程度是所述抗体与所述靶抗BCMA部分的结合的小于或小于约10％，如例如通过放射免疫测定(RIA)所测量。在一些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当固定于支持物(如珠或板)上时是含有靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。

[0215] 在一些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段当呈可溶形式时是含有靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段并且包含含有SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VL区的抗独特型抗体或其抗原结合片段当呈可溶形式时是含有靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。

[0216] 在一些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。在一些实施方案中，结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段并且包含含有SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的VH区和含

有SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的VL区的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。

[0217] 还提供了编码结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的核酸。所提供的核酸包括编码本文所述的抗独特型抗体的核酸。核酸可以包括包含天然和/或非天然存在的核苷酸和碱基的那些,例如包括具有骨架修饰的那些。

[0218] 在一些实施方案中,编码抗独特型抗体和/或其部分(例如,链)的一种或多种核酸分子包含编码VH区且含有SEQ ID NO:90所示的核苷酸序列的核苷酸序列以及编码VL区且含有SEQ ID NO:91所示的核苷酸序列的核苷酸序列。在一些实施方案中,编码抗独特型抗体和/或其部分(例如,链)的一种或多种核酸分子包含编码重链且含有SEQ ID NO:88所示的核苷酸序列的核苷酸序列以及编码轻链且含有SEQ ID NO:89所示的核苷酸序列的核苷酸序列。

[0219] 在一些实施方案中,编码抗独特型抗体和/或其部分(例如,链)的一种或多种核酸分子包含编码VH区且含有SEQ ID NO:120所示的核苷酸序列的核苷酸序列以及编码VL区且含有SEQ ID NO:121所示的核苷酸序列的核苷酸序列。在一些实施方案中,编码抗独特型抗体和/或其部分(例如,链)的一种或多种核酸分子包含编码重链且含有SEQ ID NO:118所示的核苷酸序列的核苷酸序列以及编码轻链且含有SEQ ID NO:119所示的核苷酸序列的核苷酸序列。

[0220] 还提供了含有所述核酸的载体、含有所述载体的宿主细胞,例如以用于产生所述抗体。还提供了用于产生所述抗体的方法。在进一步的实施方案中,提供了包含这种核酸的一种或多种载体(例如,表达载体)。在进一步的实施方案中,提供包含此类核酸的宿主细胞。在一个这样的实施方案中,宿主细胞包含(例如,已经用以下各项转化):(1)含有编码包含抗体的$V_L$的氨基酸序列和包含抗体的$V_H$的氨基酸序列的核酸的载体,或(2)含有编码包含抗体的$V_L$的氨基酸序列的核酸的第一载体和含有编码包含抗体的$V_H$的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一些实施方案中,提供制备所述抗独特型抗体的方法,其中所述方法包括在适用于表达抗体的条件下培养包含编码如以上所提供的抗体的核酸的宿主细胞,以及任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述抗体。

[0221] 示例性核酸和载体包括具有SEQ ID NO:88-91和118-121中的一个或多个所示的序列及其CDR编码部分,以及与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的核酸和载体。所述核酸可以编码包含所述抗独特型抗体的$V_L$的氨基酸序列和/或包含所述抗独特型抗体的$V_H$的氨基酸序列(例如所述抗体的轻链和/或重链)。

B.针对靶抗体1和/或靶抗体2的抗ID抗体

[0222] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体,所述抗独特型抗体结合或识别(1)靶抗BCMA抗体,所述靶抗BCMA抗体是或源自靶抗体1或者是其抗原结合片段,如上所述;和/或(2)靶抗BCMA抗体,所述靶抗BCMA抗体是或源自靶抗体2或者是其抗原结合片段,如上所述。在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体,所述抗独特型抗体结合或识别(1)靶抗BCMA抗体,所述靶抗BCMA抗体是或源自靶抗体1或者是其抗原结合片段,如上所述;和(2)靶抗BCMA抗体,所述靶抗BCMA抗体是或源自靶抗体2或者是其抗原结合片段,如上所述。在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体,所述抗独特型抗体结合或识别(1)靶抗BCMA抗体,所述靶抗

BCMA抗体是或源自靶抗体1或者是其抗原结合片段，如上所述；或(2)靶抗BCMA抗体，所述靶抗BCMA抗体是或源自靶抗体2或者是其抗原结合片段，如上所述。在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体，所述抗独特型抗体结合或识别作为或源自靶抗体1的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段的程度大于所述抗独特型抗体结合或识别作为或源自靶抗体2的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段的程度。在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体，所述抗独特型抗体结合或识别作为或源自靶抗体2的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段的程度大于所述抗独特型抗体结合或识别作为或源自靶抗体1的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段的程度。因此，在一些实施方案中，提供了结合或识别多于一种靶抗BCMA抗体(例如两种不同的抗BCMA抗体，如靶抗体1和靶抗体2)的抗独特型抗体。在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体，所述抗独特型抗体与作为或源自靶抗体1的靶抗BCMA抗体特异性地结合，并且与作为或源自靶抗体2的靶抗BCMA抗体特异性地结合。在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体，所述抗独特型抗体与作为或源自靶抗体1的靶抗BCMA抗体特异性地结合，或与作为或源自靶抗体2的靶抗BCMA抗体特异性地结合。下面提供了示例性抗体或其抗原结合片段。

[0223] 在一些实施方案中，靶抗体1是指第一靶抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，靶抗体2是指第一靶抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，靶抗体1是指第二靶抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，靶抗体2是指第二靶抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，靶抗体1是指第一靶抗体或其抗原结合片段，并且靶抗体2是指第二靶抗体或其抗原结合片段。

[0224] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的VH区和与SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的VL区；并且结合或识别抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的VH区和与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的VL区。在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区；并且结合或识别抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

[0225] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段，所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的VH区和与SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的VL区；并且结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段，所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的VH区和与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的VL区。在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗

原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区;并且结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

[0226] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VH区和与SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VL区;或者结合或识别抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VH区和与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VL区。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区;或者结合或识别抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

[0227] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VH区和与SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VL区;或者结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VH区和与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的VL区。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区;或者结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和具有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

[0228] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别scFv,所述scFv包含与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列;并且结合或识别scFv,所述scFv包含与SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别具有SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列的scFv;并且结合或识别具有SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的scFv。

[0229] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体,所述靶抗BCMA抗体是scFv,所述scFv包含与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性的氨基酸序列;并且结合或识别

靶抗BCMA抗体，所述靶抗BCMA抗体是scFv，所述scFv包含与SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体，所述靶抗BCMA抗体是具有SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列的scFv；并且结合或识别靶抗BCMA抗体，所述靶抗BCMA抗体是具有SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的scFv。

[0230] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别scFv，所述scFv包含与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的氨基酸序列；或者结合或识别scFv，所述scFv包含与SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别具有SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列的scFv；并且结合或识别具有SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的scFv。

[0231] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体，所述靶抗BCMA抗体是scFv，所述scFv包含与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的氨基酸序列；或者结合或识别靶抗BCMA抗体，所述靶抗BCMA抗体是scFv，所述scFv包含与SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体，所述靶抗BCMA抗体是具有SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列的scFv；并且结合或识别靶抗BCMA抗体，所述靶抗BCMA抗体是具有SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的scFv。

[0232] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的CDR-H3；以及具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR-L3；并且结合或识别抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3；以及具有SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0233] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段，所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的CDR-H3；以及具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR-L3；并且结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段，所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3；以及具有SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0234] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的CDR-H3;以及具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR-L3;或者结合或识别抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3;以及具有SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0235] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列的CDR-H3;以及具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列的CDR-L3;或者结合或识别靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段,所述靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段包含具有SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的CDR-H1、具有SEQ ID NO:16所示的氨基酸序列的CDR-H2、和具有SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列的CDR-H3;以及具有SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列的CDR-L1、具有SEQ ID NO:23所示的氨基酸序列的CDR-L2、和具有SEQ ID NO:24所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0236] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别具有与靶抗体1相同独特型的抗体或其抗原结合片段;并且结合或识别具有与靶抗体2相同独特型的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别具有与靶抗体1相同独特型的抗体或其抗原结合片段;或者结合或识别具有与靶抗体2相同独特型的抗体或其抗原结合片段。

[0237] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别具有与靶抗体1相同独特型的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段;并且结合或识别具有与靶抗体2相同独特型的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别具有与靶抗体1相同独特型的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段;或者结合或识别具有与靶抗体2相同独特型的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段。

[0238] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体与抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体1,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL区;和/或与抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体2,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的VL区。

[0239] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体与抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体1,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL区;或与抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体2,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列的VL区。

[0240] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体与抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体1,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL区;和/或与抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体2,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VL区。

[0241] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体与抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体1,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的VL区;或与抗体或其抗原结合片段竞争结合靶抗体2,所述抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列的VL区。

[0242] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别与靶抗体1竞争结合的抗体或其抗原结合片段;并且结合或识别与靶抗体2竞争结合的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别与靶抗体1竞争结合的抗体或其抗原结合片段;或者结合或识别与靶抗体2竞争结合的抗体或其抗原结合片段。

[0243] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别与靶抗体1竞争结合的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段;并且结合或识别与靶抗体2竞争结合的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别与靶抗体1竞争结合的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段;或者结合或识别与靶抗体2竞争结合的靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段。

[0244] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别包含在CAR内所含的靶抗体1的抗原结合结构域;并且结合或识别包含在CAR内的靶抗体2的抗原结合结构域。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别包含在CAR内所含的靶抗体1的抗原结合结构域;或者结合或识别包含在CAR内的靶抗体2的抗原结合结构域。

[0245] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别包含在CAR内所含的靶抗体1的抗原结合结构域;并且结合或识别包含在CAR内的靶抗体2的抗原结合结构域。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别包含在CAR内所含的靶抗体1的抗原结合结构域;或者结合或识别包含在CAR内的靶抗体2的抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述CAR是如第II部分所述的任何CAR。

[0246] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区与SEQ ID NO:38所示的VH区氨基酸序列具有至少90%序列同一性,如与其至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性;和VL区,所述VL区与SEQ ID NO:39所示的VL区氨基酸序列具有至少90%序列同一性,如与其至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列同一性。在一些任何此类实施方案中,所述VH区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述VL区包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中,所述VH区包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列。

[0247] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序

列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0248] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含分别含有SEQ ID NO:38所示的VH区氨基酸序列内所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;以及分别含有SEQ ID NO:39所示的VL区氨基酸序列内所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0249] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列,其分别与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。

[0250] 在一些任何此类实施方案中,所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4,其分别与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列,其分别与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。

[0251] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性,并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4,其分别与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性,并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、

95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。在一些实施方案中，所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性，并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列，其分别与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、98％、99％序列同一性。

[0252] 在一些任何此类实施方案中，所述VH区具有SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述VL区具有SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述VH区具有SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列，并且所述VL区具有SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。

[0253] 在一些任何此类实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区，所述VH区包含含有SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR-H3；和VL区，所述VL区包含含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-L3；含有SEQ ID NO:38所示的氨基酸的VH区；含有SEQ ID NO:39所示的氨基酸的VL区；含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的轻链。

[0254] 在一些实施方案中，结合或识别靶抗体1或其抗原结合片段和靶抗体2或其抗原结合片段的抗独特型抗体是单链抗体片段，如scFv或双抗体。在一些实施方案中，单链抗体包括连接两个抗体结构域或区域(如可变重链(VH)区和可变轻链(VL)区)的一个或多个接头。所述接头通常是肽接头，例如，柔性和/或可溶肽接头。所述接头包括富含甘氨酸和丝氨酸和/或在一些情况下苏氨酸的那些接头。在一些实施方案中，所述接头还包括带电荷的残基(如赖氨酸和/或谷氨酸)，其可以改善溶解性。在一些实施方案中，所述接头还包括一个或多个脯氨酸。

[0255] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体是完整抗体或全长抗体。在一些实施方案中，所述抗ID可以含有免疫球蛋白恒定区的至少一部分，如一个或多个恒定区结构域。在一些实施方案中，所述恒定区包括轻链恒定区(CL)和/或重链恒定区1(CH1)。在一些实施方案中，所述抗ID包含CH2和/或CH3结构域，如Fc区。在一些实施方案中，所述Fc区是人IgG(如IgG1或IgG4)的Fc区。

[0256] 在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含在SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列内所含的重链恒定区和在SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列内所含的轻链恒定区。在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含与在SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列内所含的重链恒定区具有至少90％序列同一性的重链恒定区和与在SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列内所含的轻链恒定区具有至少90％序列同一性的轻链恒定区。

[0257] 在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链，所述重链含有与SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列；和轻链，所述轻链含有与SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列

具有至少90％序列同一性的氨基酸序列。

[0258] 在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的轻链。

[0259] 还提供了编码所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的核酸，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合或识别靶抗体和靶抗体2或其抗原结合片段。所提供的核酸包括编码本文所述的抗独特型抗体的核酸。核酸可以包括包含天然和/或非天然存在的核苷酸和碱基的那些，例如包括具有骨架修饰的那些。在一些实施方案中，编码抗独特型抗体和/或其部分(例如，链)的一种或多种核酸分子包含编码VH区且含有SEQ ID NO:48所示的核苷酸序列的核苷酸序列以及编码VL区且含有SEQ ID NO:49所示的核苷酸序列的核苷酸序列。在一些实施方案中，编码抗独特型抗体和/或其部分(例如，链)的一种或多种核酸分子包含编码重链且含有SEQ ID NO:42所示的核苷酸序列的核苷酸序列以及编码轻链且含有SEQ ID NO:43所示的核苷酸序列的核苷酸序列。

[0260] 还提供了含有所述核酸的载体、含有所述载体的宿主细胞，例如以用于产生所述抗体。还提供了用于产生所述抗体的方法。在进一步的实施方案中，提供了包含这种核酸的一种或多种载体(例如，表达载体)。在进一步的实施方案中，提供包含此类核酸的宿主细胞。在一个这样的实施方案中，宿主细胞包含(例如，已经用以下各项转化)：(1)含有编码包含抗体的$V_L$的氨基酸序列和包含抗体的$V_H$的氨基酸序列的核酸的载体，或(2)含有编码包含抗体的$V_L$的氨基酸序列的核酸的第一载体和含有编码包含抗体的$V_H$的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一些实施方案中，提供制备所述抗独特型抗体的方法，其中所述方法包括在适用于表达抗体的条件下培养包含编码如以上所提供的抗体的核酸的宿主细胞，以及任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述抗体。

[0261] 示例性核酸和载体包括具有SEQ ID NO:42、43、48和49中的一个或多个所示的序列及其CDR编码部分，以及与其具有至少或至少约90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的序列的核酸和载体。所述核酸可以编码包含所述抗独特型抗体的$V_L$的氨基酸序列和/或包含所述抗独特型抗体的$V_H$的氨基酸序列(例如所述抗体的轻链和/或重链)。

[0262] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区，所述VH区与SEQ ID NO:62所示的VH区氨基酸序列具有至少90％序列同一性，如与其至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性；和VL区，所述VL区与SEQ ID NO:63所示的VL区氨基酸序列具有至少90％序列同一性，如与其至少91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％序列同一性。

[0263] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区，所述VH区包含含有SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列的CDR-H3；和VL区，所述VL区包含含有SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区，所述VH区包含含有SEQ ID NO:55所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:56所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:54所示的氨基

酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的CDR-L3。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段包含VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列的CDR-H3;和VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

[0264] 在一些实施方案中,提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含分别含有SEQ ID NO:62所示的VH区氨基酸序列内所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;以及分别含有SEQ ID NO:63所示的VL区氨基酸序列内所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

[0265] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列,其分别与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。

[0266] 在一些任何此类实施方案中,所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4,其分别与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列,其分别与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。

[0267] 在一些任何此类实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性,并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4,其分别与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少90%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性,并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和/或FR4序列,其分别与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和/或FR4具有至少91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性。在一些实施方案中,所述VH区含有框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列,其分别与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%序列同一性,并且所述VL区包含框架区1(FR1)、FR2、FR3和FR4序列,其分别与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列的FR1、FR2、FR3和FR4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、

98％、99％序列同一性。

[0268] 在一些任何此类实施方案中，所述VH区具有SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述VL区具有SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。在一些任何此类实施方案中，所述VH区具有SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列，并且所述VL区具有SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。

[0269] 在一些实施方案中，对靶抗体1或其抗原结合片段具有特异性的抗独特型抗体是单链抗体片段，如scFv或双抗体。在一些实施方案中，所述单链抗体包括连接两个抗体结构域或区域(如可变重链(VH)区和可变轻链(VL)区)的一个或多个接头。所述接头通常是肽接头，例如，柔性和/或可溶肽接头。所述接头包括富含甘氨酸和丝氨酸和/或在一些情况下苏氨酸的那些接头。在一些实施方案中，所述接头还包括带电荷的残基(如赖氨酸和/或谷氨酸)，其可以改善溶解性。在一些实施方案中，所述接头还包括一个或多个脯氨酸。

[0270] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体是完整抗体或全长抗体。在一些实施方案中，所述抗ID可以含有免疫球蛋白恒定区的至少一部分，如一个或多个恒定区结构域。在一些实施方案中，所述恒定区包括轻链恒定区(CL)和/或重链恒定区1(CH1)。在一些实施方案中，所述抗ID包含CH2和/或CH3结构域，如Fc区。在一些实施方案中，所述Fc区是人IgG(如IgG1或IgG4)的Fc区。

[0271] 在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含在SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列内所含的重链恒定区和在SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列内所含的轻链恒定区。在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含与在SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列内所含的重链恒定区具有至少90％序列同一性的重链恒定区和与在SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列内所含的轻链恒定区具有至少90％序列同一性的轻链恒定区。

[0272] 在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链，所述重链含有与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列；和轻链，所述轻链含有与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列。

[0273] 在一些实施方案中，提供了抗独特型抗体或其抗原结合片段，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的轻链。

[0274] 还提供了编码结合或识别靶抗体1或其抗原结合片段的所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的核酸。所提供的核酸包括编码本文所述的抗独特型抗体的核酸。核酸可以包括包含天然和/或非天然存在的核苷酸和碱基的那些，例如包括具有骨架修饰的那些。在一些实施方案中，编码抗独特型抗体和/或其部分(例如，链)的一种或多种核酸分子包含编码VH区且含有SEQ ID NO:67所示的核苷酸序列的核苷酸序列以及编码VL区且含有SEQ ID NO:68所示的核苷酸序列的核苷酸序列。在一些实施方案中，编码抗独特型抗体和/或其部分(例如，链)的一种或多种核酸分子包含编码重链且含有SEQ ID NO:66所示的核苷酸序列的核苷酸序列以及编码轻链且含有SEQ ID NO:69所示的核苷酸序列的核苷酸序列。

[0275] 还提供了含有所述核酸的载体、含有所述载体的宿主细胞，例如以用于产生所述抗体。还提供了用于产生所述抗体的方法。在进一步的实施方案中，提供了包含这种核酸的

一种或多种载体(例如,表达载体)。在进一步的实施方案中,提供包含此类核酸的宿主细胞。在一个这样的实施方案中,宿主细胞包含(例如,已经用以下各项转化):(1)含有编码包含抗体的$V_L$的氨基酸序列和包含抗体的$V_H$的氨基酸序列的核酸的载体,或(2)含有编码包含抗体的$V_L$的氨基酸序列的核酸的第一载体和含有编码包含抗体的$V_H$的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一些实施方案中,提供制备所述抗独特型抗体的方法,其中所述方法包括在适用于表达抗体的条件下培养包含编码如以上所提供的抗体的核酸的宿主细胞,以及任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收所述抗体。

[0276] 示例性核酸和载体包括具有SEQ ID NO:66-69中的一个或多个所示的序列及其CDR编码部分,以及与其具有至少或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的核酸和载体。所述核酸可以编码包含所述抗独特型抗体的$V_L$的氨基酸序列和/或包含所述抗独特型抗体的$V_H$的氨基酸序列(例如所述抗体的轻链和/或重链)。

[0277] 在一些实施方案中,抗独特型抗体是抗原结合片段。在一些实施方案中,抗原结合片段选自抗原结合的片段(Fab)片段、$F(ab')_2$片段、Fab'片段、Fv片段、单链可变片段(scFv)或单结构域抗体。

[0278] 因此,提供了单链抗体片段(如scFv和双抗体),特别是人单链片段,通常包含连接两个抗独特型抗体结构域或区域(如$V_H$和$V_L$结构域)的一个或多个接头。接头通常是肽接头,例如柔性和/或可溶性肽接头,例如富含甘氨酸和丝氨酸的一种肽接头。

[0279] 在一些方面,富含甘氨酸和丝氨酸(和/或苏氨酸)的接头包含至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的此类氨基酸。在一些实施方案中,它们包含至少或至少约50%、55%、60%、70%或75%的甘氨酸、丝氨酸和/或苏氨酸。在一些实施方案中,接头基本上完全由甘氨酸、丝氨酸和/或苏氨酸组成。接头的长度通常在约5个与约50个氨基酸之间,通常在为或约10个与为或约30个之间,例如10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个或30个,并且在一些例子中长度在10个与25个氨基酸之间。

[0280] 在一些实施方案中,抗独特型抗体包括分离的抗体。在一些实施方案中,抗ID是人源化的、重组的和/或单克隆的。在一些实施方案中,抗ID是人的。

[0281] 在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的抗独特型抗体是人源化的。在特定实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的人源化抗独特型抗体的所有或基本上所有CDR氨基酸残基源自靶抗体1/2非人CDR。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的人源化抗独特型抗体包含源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。

[0282] 在某些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的人源化抗独特型抗体包括人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体重链可变区的残基被来自结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的非人抗独特型抗体的重链可变区的残基替代。在一些情况下,人免疫球蛋白的FR残基被相应的非人残基替代。在一些实施方案中,所述人源化抗体含有源自不同基因的FR。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的人源化抗独特型抗体含有免疫球蛋白恒定区(Fc)、通常是人免疫球蛋白的恒定区(Fc)的至少一部分。

[0283] 在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的人源化抗独特型抗体含有改变的人受体抗体可变结构域序列,其已被提供为编码对应于非人供体序列的轻链可变

区的位置4、35、38、43、44、46、58、62、64、65、66、67、68、69、73、85、98(Kabat)和重链可变区的位置2、4、36、39、43、45、69、70、74、75、76、78、92(Kabat)的一个或多个氨基酸残基。

[0284] 在某些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的抗独特型抗体是人源化的。在特定实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的人源化抗独特型抗体含有结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3区中的一个或多个。在一些实施方案中,所述CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3区中的一些或全部含有一个或多个氨基酸修饰。在一些实施方案中,所述修饰是用人残基替代非人氨基酸残基。在特定实施方案中,将所述CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3中的一个或多个插入人抗体的FR区中。在特定实施方案中,所述非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3分别是具有SEQ ID NO:38和39所示的氨基酸序列的VH和VL区的CDR。在一些实施方案中,将结合或识别靶抗体1的抗独特型抗体的所有CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3插入所述人抗体的FR中。在特定实施方案中,所述CDR和FR区是如通过Kabat、Chothia、AbM和/或Contact方案鉴定的区域。

[0285] 在特定实施方案中,将结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3中的一个或多个或全部插入人抗体的框架区中。在某些实施方案中,所述人抗体是IgA、IgD、IgE、IgG和IgM抗体。在特定实施方案中,所述人抗体是人IgA、IgD、IgE、IgG和IgM的亚类之一,例如人$IgG_1$、$IgG_2$、$IgG_3$、$IgG_4$、$IgA_1$或$IgA_2$。在一些实施方案中,将结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3中的一个或多个或全部插入来自和/或源自人抗体的抗原结合区的框架区中。在某些实施方案中,所述抗原结合片段来自和/或源自人IgA、IgD、IgE、IgG和IgM抗体。不同类别的人免疫球蛋白的亚基结构和三维构型是熟知的,并且通常描述于例如Abbas等人Cellular and Mol.Immunology,第4版(W.B.Saunders,Co.,2000)中。在一些实施方案中,所述人抗体或其抗原结合片段可以是较大的融合分子的一部分,所述融合分子通过所述人抗体与一种或多种其他蛋白质或肽的共价或非共价缔合形成。

[0286] 在一些实施方案中,将结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的非人抗独特型抗体的CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3和CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3中的一个或多个或全部插入具有全部或部分Fc区的人抗体或其抗原结合片段的框架区中。在某些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的人源化抗独特型抗体含有Fc区的全部或一部分。在一些实施方案中,所述Fc区在一个或多个氨基酸位置具有一个或多个修饰,例如氨基酸修饰(例如取代、插入或缺失)。可以进行此类修饰,例如以改善半衰期、改变与一种或多种类型的Fc受体的结合和/或改变效应子功能。在一些实施方案中,相对于未修饰的Fc区,经修饰的Fc区具有改变的(例如,降低的)与FcαR的结合。在某些实施方案中,所述人源化抗独特型抗体包含经修饰的Fc区的全部或一部分,相对于未修饰的Fc区,所述经修饰的Fc区具有改变的(例如,降低的)与Fc受体的结合。改变其与Fc受体结合的Fc修饰的非限制性例子描述于例如美国专利号7,217,797和7,732,570;以及美国申请号US2010/0143254和2010/0143254。

[0287] 在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的解离常数($K_D$)和/或解离速率($k_{off}$)低于结合

或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的其他试剂的解离常数和/或解离速率。在一些实施方案中,所述解离常数和/或解离速率低于BCMA-Fc的解离常数和/或解离速率。在一些实施方案中,所述解离常数和解离速率低于BCMA-Fc的解离常数和解离速率。在一些方面,较低的解离常数允许在靶抗体1和/或靶抗体2、其抗原结合片段或含有其的CAR与所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段之间较强的结合。在一些方面,较低的解离速率允许在靶抗体1和/或靶抗体2、其抗原结合片段或含有其的CAR与所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段之间较长的结合。因此,在一些方面,相对于使用其他试剂(例如,BCMA-Fc),靶抗体1和/或靶抗体2、其抗原结合片段或含有其的CAR的检测、分离和刺激通过使用所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段而改善。例如,使用所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段可以允许与靶抗体1和/或靶抗体2、其抗原结合片段或含有其的CAR稳定结合,从而改善这些靶标的检测和分离。类似地,这种使用可以允许更持久地刺激所述CAR和被工程化为表达所述CAR的细胞,例如T细胞。

[0288] 在某些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的结合亲和力(EC50)和/或解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM,如在为或约1nM与为或约15nM之间,例如,在为或约5nM与为或约10nM之间。在某些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的EC50是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM,如在为或约1nM与为或约15nM之间,例如,在为或约5nM与为或约10nM之间。在某些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM,如在为或约1nM与为或约15nM之间,例如,在为或约5nM与为或约10nM之间。在某些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段与和所述靶抗BCMA部分(例如,靶抗体1或靶抗体2)无关的部分的结合程度是所述抗体与所述靶抗BCMA部分的结合的小于或小于约10%,如例如通过放射免疫测定(RIA)所测量。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当固定于支持物(如珠或板)上时是含有靶抗体1或靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段当呈可溶形式时是含有靶抗体1或靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段并且包含含有SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VL区的抗独特型抗体或其抗原结合片段当呈可溶形式时是含有靶抗体1或靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段并且包含含有SEQ ID NO:38所示的氨基酸序

列的VH区和含有SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列的VL区的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。

C.示例性特征

[0289] 本文提供的抗独特型抗体可以通过各种已知的测定针对其物理/化学特性和/或生物活性来鉴定、筛选或表征。在一个方面,例如通过已知的方法(如ELISA、蛋白质印迹和/或流式细胞术测定,包括基于细胞的结合测定,例如评估抗独特型抗体(例如,在一些情况下,与荧光标记物缀合的或标记的)与呈递所述靶抗BCMA抗体部分的细胞的结合的测定),针对其抗原结合活性测试所述抗独特型抗体,在一些情况下与使用不表达所述靶抗BCMA抗体部分的细胞所得的结果进行比较。结合亲和力可以测量为Kd或EC50。

[0290] 在任何所提供的抗独特型抗体(例如,上文第A部分中的任何所提供的抗体)的一些实施方案中,靶抗BCMA抗体部分是靶抗体2或者是源自靶抗体2的抗体。

[0291] 在任何所提供的抗独特型抗体(例如在上文第B部分中的任何所提供的抗体)的一些实施方案中,所述靶抗BCMA抗体部分是(i)靶抗体1或者是源自靶抗体1的抗体,和/或(ii)靶抗体2或者是源自靶抗体2的抗体。

[0292] 在一些实施方案中,结合或识别所述靶抗BCMA部分的抗独特型抗体或抗原结合片段是特异性地结合或优先结合(可互换使用)所述靶抗BCMA部分的抗独特型抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,结合或识别靶抗BCMA抗体的抗独特型抗体或抗原结合片段是特异性地结合或优先结合(可互换使用)靶抗BCMA抗体的抗独特型抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中,与所述靶抗BCMA抗体特异性地结合的抗独特型抗体及其抗原结合片段包括具有特定表位特异性的抗体。在一些实施方案中,当抗体在蛋白质和/或大分子的复杂混合物中优先识别其靶抗原时,称所述抗体特异性地结合抗原。在一些实施方案中,当平衡解离常数$<10^{-7}$或$10^{-8}$M时,称所述抗体特异性地结合或优先结合抗原。在一些实施方案中,平衡解离常数可以是$<10^{-9}$M或$<10^{-10}$M。在进一步的实施方案中,平衡解离常数可以是$<10^{-11}$M或更小。在一些实施方案中,如果与抗体结合其他物质的情况相比,抗体以更大亲和力、亲合力更容易地和/或以更长的持续时间结合靶标,则抗体特异性地结合或优先结合靶标。例如,如果抗独特型抗体或抗原结合片段与例如包含在CAR中的靶抗BCMA抗体比与例如包含在CAR中的非靶抗体更频繁、更快速、以更长的持续时间和/或以更高的亲和力反应或缔合,则所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地或优先结合靶抗BCMA抗体。应理解,特异性结合或优先结合并不一定需要(尽管可以包括)专一结合。用于确定这种特异性或优先结合的方法包括免疫测定和其他结合测定。

[0293] 已知有多种测定用于评估结合亲和力和/或确定抗体是否与特定结合配偶体特异性地结合。确定抗体的结合亲和力在本领域技术人员的水平之内,如通过使用本领域熟知的多种结合测定中的任一种。各种结合测定是已知的并且包括但不限于例如ELISA $K_D$、KinExA、流式细胞术和/或表面等离子体共振装置,包括本文所述的那些。此类方法包括但不限于涉及BIAcore®、Octet®或流式细胞术的方法。例如,在一些实施方案中,BIAcore®仪器可以用于使用表面等离子体共振(SPR)分析来确定两种蛋白质之间的复合物的结合动力学和常数(参见例如,Scatchard等人,Ann.N.Y.Acad.Sci.51:660,1949;Wilson,Science 295:2103,2002;Wolff等人,Cancer Res.53:2560,1993;以及美国专利号5,283,173、5,468,614或等同物)。在分子结合至表面或从表面解离时,SPR测量传感器表面处分子浓度的

变化。所述SPR信号的变化与靠近表面的质量浓度变化成正比，从而允许测量两个分子之间的结合动力学。可以通过监测当缓冲液经过芯片时折射率关于时间的变化来确定与复合物的解离常数。用于测量一种蛋白质与另一种蛋白质的结合的其他合适的测定包括例如免疫测定(如酶联免疫吸附测定(ELISA)和放射免疫测定(RIA))或通过借助荧光、紫外吸收、圆二色性或核磁共振(NMR)监测蛋白质的光谱或光学特性的变化来确定结合。其他示例性测定包括但不限于蛋白质印迹、ELISA、分析型超速离心、光谱法、流式细胞术、测序和用于检测蛋白质结合的其他方法。

[0294] 在特定实施方案中，与非靶抗体相比，本文公开的抗体及其抗原结合片段优先结合靶抗BCMA抗体，使得所述抗体对靶抗BCMA抗体的结合亲和力是所述抗体对非靶抗体的结合亲和力的至少5倍、至少10倍、至少100倍或至少1000倍。所述非靶抗体包括针对不同抗原(例如，除了BCMA之外)的抗体，或者可以包括包含一个或多个不同于靶抗BCMA抗体的CDR并且结合BCMA的不同表位或结合位点的针对BCMA的抗体。

[0295] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体以最小的交叉反应性与其他抗体特异性地结合。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体不与针对不同于靶抗BCMA抗体部分的抗原的抗体部分交叉反应。

[0296] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体不与不同于靶抗BCMA抗体部分的抗BCMA抗体部分交叉反应。在一些实施方案中，所述靶抗BCMA抗体部分源自靶抗体1。在一些实施方案中，所述靶抗BCMA抗体部分源自靶抗体1，并且所述抗独特型抗体不与源自靶抗体2的抗BCMA抗体部分交叉反应。在一些实施方案中，所述靶抗BCMA抗体部分源自靶抗体2。在一些实施方案中，所述靶抗BCMA抗体部分源自靶抗体2，并且所述抗独特型抗体不与源自靶抗体1的抗BCMA抗体部分交叉反应。

[0297] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体与不同于靶抗BCMA抗体部分的抗BCMA抗体部分交叉反应。在一些实施方案中，所述靶抗BCMA抗体部分源自靶抗体1，并且所述抗独特型抗体与源自靶抗体2的抗BCMA抗体部分交叉反应。在一些实施方案中，所述靶抗BCMA抗体部分源自靶抗体2，并且所述抗独特型抗体与源自靶抗体1的抗BCMA抗体部分交叉反应。

[0298] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体结合或识别作为融合蛋白(如重组受体)的一部分的靶抗BCMA抗体部分。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体不与融合蛋白中靶抗BCMA抗体部分之外的任何表位结合。例如，在一些实施方案中，所述靶抗BCMA抗体部分是嵌合抗原受体(CAR)的抗原结合结构域或其一部分，并且所述抗独特型抗体不结合所述抗原结合结构域之外的任何表位。在一些实施方案中，所述CAR抗原结合结构域包含scFv或由其组成。

[0299] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体结合或识别靶抗BCMA抗体部分，所述靶抗BCMA抗体部分是包含在CAR中的scFv。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体结合或识别与靶抗BCMA scFv的一个或多个互补决定区(CDR)重叠的表位。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体不结合CAR中scFv之外的任何表位；在一些实施方案中，其不与参考抗体结合。在一些实施方案中，所述参考抗体结合或识别与靶抗体相同的抗原(例如BCMA)和/或包含一个或多个可变重链和/或可变轻链框架区，其与靶抗体的一个或多个相应框架区具有至少90％、95％、96％、97％、98％或99％同一性(在一些方面，所述一个或多个框架区包含重链和/或轻链的FR1、FR2、FR3和/或FR4)；和/或含有与靶抗体相同的重链和/或轻链v基因(或v

基因使用)和/或源自与靶抗体相同的v基因序列。在一些方面,所述参考抗体是靶抗体1。在一些方面,所述参考抗体是靶抗体2。

[0300] 在一些实施方案中,包含抗独特型抗体或其抗原结合片段的CAR包含将scFv与其跨膜结构域连接的间隔子,并且所述抗独特型抗体不结合所述间隔子中的任何表位。在一些实施方案中,所述间隔子是源自CD28的序列,如来自CD28的胞外部分。在一些实施方案中,所述间隔子包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体不结合Fc结构域(如IgG1的Fc结构域)中的任何表位。在一些实施方案中,所述Fc结构域是缺乏铰链区的IgG1 Fc结构域。

[0301] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体不与不同的CAR交叉反应。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体不与不同的抗BCMA CAR交叉反应。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体不与抗BCMA抗体部分(例如,参考抗体的)交叉反应,所述抗BCMA抗体部分与靶抗BCMA scFv相比具有一种或多种不同的独特型。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体结合或识别源自靶抗体1的CAR的靶抗BCMA scFv。在一些实施方案中,所述靶抗BCMA抗体部分源自靶抗体1,并且所述抗独特型抗体不与含有源自靶抗体2的抗BCMA抗体部分的CAR交叉反应。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体结合或识别源自靶抗体2的CAR的靶抗BCMA scFv。在一些实施方案中,所述靶抗BCMA抗体部分源自靶抗体2,并且所述抗独特型抗体不与含有源自靶抗体1的抗BCMA抗体部分的CAR交叉反应。

[0302] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是CAR的激动剂。当抗独特型抗体或其抗原结合片段与抗BCMA靶抗体的结合增加表达CAR的细胞(例如T细胞)的活性,例如,增加Nur77表达、增加增殖、增加细胞因子产生(例如IFN-γ或TNFα)和/或增加细胞毒性活性或细胞的其他效应子活性时,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被称为在其胞外抗原结合结构域中含有靶抗BCMA抗体或其抗原结合片段的CAR的“激动剂”。例如,在一些实施方案中,抗独特型抗体或其抗原结合片段与包含在CAR的胞外抗原结合结构域中的抗BCMA靶抗体的结合能够刺激或激活CAR,从而诱导或介导表达CAR的细胞的一种或多种活性。

[0303] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体在溶液中时如当所述抗独特型抗体是可溶的或不固定在支持物(例如珠或板)上时是CAR的激动剂。在一些实施方案中,当所述抗独特型抗体在溶液中时,如当所述抗独特型抗体是可溶的或不固定在支持物(如珠或板)上时,任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段是在其胞外抗原结合结构域中含有靶抗BCMA抗体的CAR的激动剂。在一些实施方案中,当所述抗独特型抗体在溶液中时,如当所述抗独特型抗体是可溶的或不固定在支持物(如珠或板)上时,结合或识别靶BCMA抗体或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段是在其胞外抗原结合结构域中含有靶抗BCMA抗体的CAR的激动剂。

[0304] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是CAR的激动剂。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体当呈可溶形式时是CAR的激动剂。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体当被固定在支持物(如珠)上时是CAR的激动剂。在一些实施方案中,任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当固定在支持物(如珠或板)上时是含有靶抗体的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当固定于支持物(如珠或板)上时是含有靶抗体1的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所

提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当固定于支持物(如珠或板)上时是含有靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当固定于支持物(如珠或板)上时是含有靶抗体1或靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当固定于支持物(如珠或板)上时是含有靶抗体1或靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当呈可溶形式时是含有靶抗体的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当呈可溶形式时是含有靶抗体1的抗原结合结构域的CAR的激动剂。当抗独特型抗体或其抗原结合片段能够通过与CAR结合或缔合增加CAR的活性(例如被工程化为表达CAR的细胞的T细胞刺激)时,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被称含有靶抗体或其抗原结合片段的CAR的“激动剂”。

[0305] 在一些实施方案中,细胞的活性包括用重组受体(例如CAR)工程化的细胞(例如T细胞)的一种或多种功能或表型。在特定实施方案中,所述细胞是靶抗BCMA CAR表达T细胞,并且所述活性包括T细胞的一种或多种功能或表型。在一些实施方案中,T细胞功能活性的测定包括但不限于细胞因子产生(例如通过ELISPOT或ELISA)、细胞内细胞因子染色、细胞增殖或细胞毒性淋巴细胞(CTL)测定。在一些实施方案中,可以测量T细胞的增殖反应,例如通过将$^{3}$H-胸苷、BrdU(5-溴-2'-脱氧尿苷)或2'-脱氧-5-乙炔基尿苷(EdU)掺入T细胞的DNA中或使用诸如羧基荧光素二乙酸琥珀酰免疫调节化合物酯(CFSE)、CellTrace Violet或膜染料PKH26等染料的染料稀释测定。

[0306] 在一些实施方案中,评估细胞(例如T细胞)的功能活性包括在使靶抗BCMA CAR表达T细胞与抗独特型抗体或其抗原结合片段接触之后测量来自T细胞的细胞因子产生。在一些情况下,此类所测量的细胞因子可以包括但不限于白介素-2(IL-2)、干扰素-γ(IFNγ)、白介素-4(IL-4)、TNF-α(TNFα)、白介素-6(IL-6)、白介素-10(IL-10)、白介素-12(IL-12)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、CD107a和/或TGF-β(TGFβ)。测量细胞因子的测定是本领域所熟知的,并且包括但不限于ELISA、细胞内细胞因子染色、流式微珠阵列、RT-PCR、ELISPOT、流式细胞术和在存在测试样品的情况下测试对相关细胞因子有反应的细胞的反应性(例如,增殖)的生物测定。

[0307] 在一些实施方案中,评估细胞(例如T细胞)的功能活性包括在使靶抗BCMA CAR表达T细胞与抗独特型抗体或其抗原结合片段接触之后评估细胞表型,例如特定细胞表面标记物的表达。在一些实施方案中,评估T细胞(例如,T细胞疗法所施用的T细胞)中T细胞激活标记物、T细胞耗竭标记物和/或T细胞分化标记物的表达。用于评估的T细胞激活标记物、T细胞耗竭标记物和/或T细胞分化标记物包括本领域已知用于特定T细胞子集的任何标记物,例如CD25、CD38、人白细胞抗原-DR(HLA-DR)、CD69、CD44、CD137、KLRG1、CD62L$^{低}$、CCR7$^{低}$、CD71、CD2、CD54、CD58、CD244、CD160、程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)、淋巴细胞激活基因3蛋白(LAG-3)、T细胞免疫球蛋白结构域和粘蛋白结构域蛋白3(TIM-3)、细胞毒性T淋巴细胞抗原-4(CTLA-4)、B和T淋巴细胞衰减因子(BTLA)和/或基于T细胞免疫球蛋白和免疫受体酪氨酸的抑制基序结构域(TIGIT)(参见例如,Liu等人,Cell Death and Disease(2015)6,e1792)。在一些实施方案中,所评估的细胞表面标记物是CD25、PD-1和/或TIM-3。在一些实

施方案中,所评估的细胞表面标记物是CD25。

[0308] 在一些实施方案中,结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段当呈可溶形式时是含有靶抗体1或靶抗体2的抗原结合结构域的CAR的激动剂。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。

[0309] 在一些实施方案中,任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段与靶抗BCMA抗体的结合不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。在一些实施方案中,与不存在可溶性BCMA或BCMA-Fc的情况相比,在存在可溶性BCMA或BCMA-Fc的情况下,当使抗独特型抗体或其抗原结合片段与靶抗BCMA抗体或用在其胞外结合结构域中含有靶抗BCMA抗体的重组受体(例如CAR)工程化的细胞接触时,结合的程度(例如,阳性细胞百分比、平均荧光强度或作为结合的量度的其他参数)基本上相同。在一些实施方案中,基本上相同的结合意味着在存在可溶性BCMA或BCMA-Fc的情况下的结合程度(例如,阳性细胞百分比、平均荧光强度或作为结合的量度的其他参数)保留了如在不存在可溶性BCMA或BCMA-Fc的情况下的结合的不小于85%、90%、92%、95%、97%或100%。

[0310] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是CAR的拮抗剂。在一些实施方案中,任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段与靶抗BCMA抗体的结合被可溶性BCMA的暴露阻断或被BCMA-Fc阻断。在一些实施方案中,与不存在可溶性BCMA或BCMA-Fc的情况相比,在存在可溶性BCMA或BCMA-Fc的情况下,当使抗独特型抗体或其抗原结合片段与靶抗BCMA抗体或用在其胞外结合结构域中含有靶抗BCMA抗体的重组受体(例如CAR)工程化的细胞接触时,结合的程度(例如,阳性细胞百分比、平均荧光强度或作为结合的量度的其他参数)减少或降低。在一些实施方案中,减少或降低的结合意味着在存在可溶性BCMA或BCMA-Fc的情况下的结合程度(例如,阳性细胞百分比、平均荧光强度或作为结合的量度的其他参数)降低,如为在不存在可溶性BCMA或BCMA-Fc的情况下的结合的小于60%、50%、40%、30%、20%、10%或更小。

[0311] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体能够以如通过多种已知方法中的任一种所测量的至少一定的亲和力结合靶抗BCMA部分,如靶抗体1或靶抗体2。在一些实施方案中,所述亲和力由平衡解离常数($K_D$)表示;在一些实施方案中,亲和力由$EC_{50}$表示。在某些实施方案中,所述抗独特型抗体与所述抗BCMA部分的结合亲和力(EC50)和/或解离常数是为或约或少于或少于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM,如在为或约1nM与为或约15nM之间,例如,在为或约5nM与为或约10nM之间。在某些实施方案中,所述抗独特型抗体与所述抗BCMA部分的EC50是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM,如在为或约1nM与为或约15nM之间,例如,在为或约5nM与为或约10nM之间。在某些实施方案中,所述抗独特型抗体与所述抗BCMA部分的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM,如在为或约1nM与为或约15nM

之间,例如,在为或约5nM与为或约10nM之间。在一个实施方案中,抗独特型抗体与和所述靶抗BCMA部分无关的部分的结合程度是所述抗体与所述靶抗BCMA部分的结合的小于或小于约10%,如例如通过放射免疫测定(RIA)所测量。

[0312] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体能够以比其他试剂(如BCMA-Fc)更好的亲和力和/或更好的动力学结合靶抗BCMA部分,如靶抗体1或靶抗体2。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体比BCMA-Fc具有更低的平衡解离常数。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体比BCMA-Fc具有更低的解离速率。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体的平衡解离常数和解离速率低于BCMA-Fc。

[0313] 在一些实施方案中,任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。在一些实施方案中,结合或识别靶抗体1和靶抗体2或其抗原结合片段的任何所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段不被可溶性BCMA的暴露阻断或不被BCMA-Fc阻断。

D.产生抗体的方法

[0314] 还提供了制备抗独特型抗体的方法,如任何所提供的实施方案的方法。在一些实施方案中,为了重组产生抗独特型抗体,可以将编码例如如上所述的抗体的核酸分离并插入一种或多种载体中,以在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。可以使用常规程序(例如,通过使用能够与编码所述抗体重链和轻链的基因特异性地结合的寡核苷酸探针)容易地分离和测序这种核酸。

[0315] 因此,本文提供了产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法(例如本文提供的任何实施方案),所述方法包括在合适的宿主细胞中表达本文提供的由一种或多种核酸分子或载体编码的重链和/或轻链,以及回收或分离抗体。

[0316] 除原核生物之外,真核微生物(如丝状真菌或酵母)也是编码抗体的载体的合适的克隆或表达宿主,包括其糖基化途径已经被修饰为模拟或接近人细胞中的那些糖基化途径从而产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体的真菌和酵母菌株。参见Gerngross,Nat.Biotech.22:1409-1414(2004)和Li等人,Nat.Biotech.24:210-215(2006)。

[0317] 可用于表达多肽的示例性真核细胞包括但不限于COS细胞,包括COS 7细胞;293细胞,包括293-6E细胞;CHO细胞,包括CHO-S、DG44.Lec13 CHO细胞和FUT8 CHO细胞;PER.C6®细胞;以及NSO细胞。在一些实施方案中,可以在酵母中表达抗体重链和/或轻链。参见例如,美国公开号US 2006/0270045 A1。在一些实施方案中,基于其对重链和/或轻链进行所需的翻译后修饰的能力来选择特定的真核宿主细胞。例如,在一些实施方案中,CHO细胞产生的多肽比在293细胞中产生的相同多肽具有更高的唾液酸化水平。

[0318] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体在无细胞系统中产生。示例性无细胞系统描述于例如Sitaraman等人,Methods Mol.Biol.498:229-44(2009);Spirin,Trends Biotechnol.22:538-45(2004);Endo等人,Biotechnol.Adv.21:695-713(2003)。

[0319] 所提供的实施方案进一步包括用于表达和产生抗体和其他结合蛋白的载体和宿主细胞以及其他表达系统(包括真核和原核宿主细胞(包括细菌、丝状真菌和酵母)以及哺乳动物细胞(如人细胞))以及无细胞表达系统。

[0320] 还提供了包含本文所述的任何核酸或载体的宿主细胞。在一些实施方案中，提供了表达本文所述的抗独特型抗体或抗原结合片段的宿主细胞。在宿主细胞中表达的所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段可以通过任何合适的方法纯化。此类方法包括但不限于使用亲和基质或疏水相互作用层析。合适的亲和配体包括靶抗BCMA抗体或结合Fc区的药剂。例如，可以使用蛋白A、蛋白G、蛋白A/G或抗体亲和柱结合Fc区并纯化包含Fc区的抗独特型抗体。疏水相互作用色谱法(例如丁基或苯基柱)也可以适用于纯化一些多肽，如抗体。离子交换色谱法(例如阴离子交换色谱法和/或阳离子交换色谱法)也可以适用于纯化一些多肽，如抗体。混合模式色谱法(例如反相/阴离子交换、反相/阳离子交换、亲水相互作用/阴离子交换、亲水相互作用/阳离子交换等)也可以适用于纯化一些多肽，如抗体。

[0321] 所述抗独特型抗体或抗体部分可以是人源化抗体或人抗体。“人源化”抗体是如下抗体，其中所有或基本上所有CDR氨基酸残基都源自非人CDR并且所有或基本上所有FR氨基酸残基都源自人FR。人源化抗体任选地可以包括源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。非人抗体的“人源化形式”是指非人抗体的变体，其已经经历人源化以通常降低对人的免疫原性，同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。在一些实施方案中，人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如，衍生出CDR残基的抗体)的相应残基取代，例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0322] 所提供的抗独特型抗体或抗体部分包括人抗体。“人抗体”是具有与人或人细胞或者利用人抗体库或其他人抗体编码序列(包括人抗体文库)的非人来源产生的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列的抗体。所述术语不包括包含非人抗原结合区的非人抗体的人源化形式，如所有或基本上所有CDR都是非人的那些。

[0323] 人抗体可以通过将免疫原施用至转基因动物来制备，所述转基因动物已经被修饰以响应于抗原激发产生完整人抗体或具有人可变区的完整抗体。此类动物通常含有人免疫球蛋白基因座的全部或部分，其替代内源免疫球蛋白基因座，或者其存在于在染色体外或随机整合到动物的染色体中。在此类转基因动物中，通常已经使内源性免疫球蛋白基因座失活。人抗体也可以源自人抗体文库，包括噬菌体展示和无细胞文库，其含有源自人库的抗体编码序列。

E.免疫缀合物

[0324] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体是免疫缀合物(抗独特型抗体免疫缀合物)或是免疫缀合物的一部分，其中所述抗独特型抗体与一种或多种异源分子(如但不限于细胞毒性剂或成像剂)缀合。细胞毒性剂包括但不限于放射性同位素(例如At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212和Lu的放射性同位素)；化学治疗剂(例如，美登木素生物碱、紫杉烷、甲氨蝶呤、阿霉素、长春花生物碱(长春新碱、长春碱、依托泊苷)、多柔比星、美法仑、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥、柔红霉素或其他嵌入剂)；生长抑制剂；酶及其片段(如溶核酶)；抗生素；毒素(如小分子毒素或酶促活性毒素)。在一些实施方案中，抗体与一种或多种细胞毒性剂(如化学治疗剂或药物、生长抑制剂、毒素(例如，蛋白质毒素，细菌、真菌、植物或动物来源的酶促活性毒素或其片段))或放射性同位素缀合。

[0325] 抗独特型抗体免疫缀合物包括其中抗独特型抗体与一种或多种药物缀合的抗体-药物缀合物(ADC)，所述一种或多种药物包括但不限于美登木素生物碱(maytansinoid)(参见美国专利号5,208,020、5,416,064和欧洲专利EP 0 425 235 B1)；澳瑞他汀如一甲基澳

瑞他汀药物部分DE和DF(MMAE和MMAF)(参见美国专利号5,635,483和5,780,588和7,498,298);尾海兔素;卡奇霉素或其衍生物(参见美国专利号5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、5,770,701、5,770,710、5,773,001和5,877,296;Hinman等人,Cancer Res.53:3336-3342(1993);和Lode等人,Cancer Res.58:2925-2928(1998));蒽环类药物如道诺霉素或多柔比星(参见Kratz等人,Current Med.Chem.13:477-523(2006);Jeffrey等人,Bioorganic&Med.Chem.Letters 16:358-362(2006);Torgov等人,Bioconj.Chem.16:717-721(2005);Nagy等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 97:829-834(2000);Dubowchik等人,Bioorg.&Med.Chem.Letters 12:1529-1532(2002);King等人,J.Med.Chem.45:4336-4343(2002);和美国专利号6,630,579);甲氨蝶呤;长春地辛;紫杉烷如多西他赛、紫杉醇、拉洛他赛、特西他赛(tesetaxel)和奥他赛;单端孢霉烯和CC1065。

[0326] 抗独特型抗体免疫缀合物还包括其中所述抗体与酶促活性毒素或其片段缀合的那些,所述酶促活性毒素或其片段包括但不限于白喉A链、白喉毒素的非结合活性片段、外毒素A链(来自绿脓假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa))、蓖麻毒素A链、相思豆毒素A链、蒴莲根毒素(modeccin)A链、α-八叠球菌素、油桐(Aleurites fordii)蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆(Phytolaca americana)蛋白(PAPI、PAPII、和PAP-S)、苦瓜(Momordica charantia)抑制剂、麻风树毒蛋白、巴豆毒蛋白、肥皂草(Sapaonaria officinalis)抑制剂、白树毒素、迈托毒素(mitogellin)、局限曲菌素、酚霉素(phenomycin)、伊诺霉素和单端孢霉烯。

[0327] 所述抗独特型抗体免疫缀合物还包括其中所述抗独特型抗体与放射性原子缀合以形成放射性缀合物的那些。示例性放射性同位素包括$At^{211}$、$I^{131}$、$I^{125}$、$Y^{90}$、$Re^{186}$、$Re^{188}$、$Sm^{153}$、$Bi^{212}$、$P^{32}$、$Pb^{212}$和Lu的放射性同位素。

[0328] 可以使用许多已知的蛋白质偶联剂中的任一种(例如接头)来制备抗独特型抗体和细胞毒性剂的缀合物(参见Vitetta等人,Science 238:1098(1987),WO 94/11026)。接头可以是促进细胞毒性药物在细胞中的释放的“可切割接头”,如酸不稳定性接头、肽酶敏感性接头、光不稳定性接头、二甲基接头和含二硫键的接头(Chari等人,Cancer Res.52:127-131(1992);美国专利号5,208,020)。

[0329] 还提供了抗独特型抗体免疫缀合物,其包含附接至标记(例如,可检测标记)的抗独特型抗体,所述标记可以间接或直接产生可检测信号。这些抗独特型抗体免疫缀合物可以用于研究或诊断应用。所述标记优选能够直接或间接地产生可检测信号。例如,所述标记可以是不透射线的或放射性同位素,例如$^{3}H$、$^{14}C$、$^{32}P$、$^{35}S$、$^{123}I$、$^{125}I$、$^{131}I$;荧光(荧光团)或化学发光(发色团)化合物,如荧光素异硫氰酸盐、罗丹明或萤光素;酶,如碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或辣根过氧化物酶;成像剂;或金属离子。在一些实施方案中,所述标记是用于闪烁扫描研究的放射性原子,例如$^{99}Tc$或$^{123}I$,或用于核磁共振(NMR)成像(也称为磁共振成像,MRI)的旋转标记,如锆-89、碘-123、碘-131、铟-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、钆、锰或铁。锆-89可以与多种金属螯合剂络合并与抗体缀合,例如用于PET成像(WO 2011/056983)。

[0330] 可检测标记的例子包括但不限于放射性核苷酸、酶、辅酶、荧光剂、化学发光剂、色原、酶底物或辅因子、酶抑制剂、辅基复合物、自由基、颗粒、染料等。合适的酶的例子包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶;合适的辅基复合物的例子包括链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素;合适的荧光材料的例子包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪胺荧光素、丹磺酰氯或藻红素、香豆素、Alexa488、俄勒冈绿

488、罗丹明绿、Alexa 532,Cy3,Bodipy 588/586、Alexa586、TAMRA、Rox、Alexa 594、德克萨斯红、Bodipy 630/650、Cy5、Alexa647、IR Dye 680、IR Dye 680、IR Dye 700DX、Cy5.5、Alexa 750、IR Dye 800CW、IR Dye 800、Atto 532以及Atto 465。

[0331] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体免疫缀合物是间接可检测的。例如,对抗独特型抗体免疫缀合物具有特异性并且含有可检测标记的二抗可以用于检测抗独特型抗体免疫缀合物。

F.变体

[0332] 在某些实施方案中,与本文所述的抗独特型抗体的序列相比,所述抗独特型抗体包含一个或多个氨基酸变异,例如取代、缺失、插入和/或突变。示例性变体包括被设计为改善抗独特型抗体的结合亲和力和/或其他生物特性的那些。可以通过在编码所述抗独特型抗体的核苷酸序列中引入适当的修饰或通过肽合成来制备抗独特型抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如抗独特型抗体氨基酸序列内的残基缺失和/或插入和/或取代。可以进行缺失、插入和取代的任何组合以得到最终的构建体,条件是最终的构建体具有所需特征,例如抗原结合。

[0333] 在某些实施方案中,例如,与本文所述的抗独特型抗体序列相比,所述抗独特型抗体包含一个或多个氨基酸取代。用于取代诱变的目的位点包括CDR和FR。可以将氨基酸取代引入目的抗独特型抗体中,并且筛选产物的所需活性,例如保留/改善的抗原结合、降低的免疫原性、改善的半衰期和/或改善的效应子功能,如促进抗体依赖性细胞毒性(ADCC)或补体依赖性细胞毒性(CDC)的能力。在一些实施方案中,所述变体抗独特型抗体展现出与靶抗BCMA抗体或其片段的保留或改善的结合。例如,在一些实施方案中,与未修饰的抗独特型抗体相比,所述变体抗独特型抗体展现出与靶抗BCMA抗体的结合亲和力增加至少约10%(如20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、1000%或更多)。

[0334] 在一些实施方案中,亲本抗体(例如人源化或人抗体)的CDR内的一个或多个残基被取代。在一些实施方案中,进行取代以将序列或序列中的位置恢复为种系序列,如在种系(例如,人种系)中发现的抗体序列,例如以降低免疫原性的可能性,例如在给予人个体以后。

[0335] 在一些实施方案中,在CDR“热点”(即,由在体细胞成熟过程中经历高频率突变的密码子编码的残基(参见例如Chowdhury,Methods Mol.Biol.207:179-196(2008))和/或接触抗原的残基)中进行改变,并对所得的变体$V_H$或$V_L$进行结合亲和力的测试。通过构建二级文库和从二级文库中重新选择而进行的亲和力成熟已经在例如Hoogenboom等人Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等人编辑,Human Press,Totowa,NJ,(2001))中进行了描述。在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如,易错PCR、链改组或寡核苷酸定向诱变)中的任一种将多样性引入选择用于成熟的可变基因中。然后建立二级文库。然后筛选文库以鉴定具有所需亲和力的任何抗体变体。引入多样性的另一种方法涉及CDR指导的方法,其中随机化几个CDR残基(例如,一次4-6个残基)。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性鉴定参与抗原结合的CDR残基。特别地,通常靶向CDR-H3和CDR-L3。

[0336] 在某些实施方案中,取代、插入或缺失可以在一个或多个CDR内发生,只要此类改变基本上不降低抗体结合抗原的能力。例如,可以在CDR中进行不显著降低结合亲和力的保

守改变(例如,如本文所提供的保守取代)。例如,此类改变可以位于CDR中的抗原接触残基之外。在上文提供的变体$V_H$和$V_L$序列的某些实施方案中,每个CDR不变,或者含有不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0337] 氨基酸序列插入包括氨基和/或羧基末端融合,长度范围从一个残基到含有一百个或更多个残基的多肽,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的例子包括具有N末端甲硫氨酰残基的抗体。抗体分子的其他插入变体包括抗体的N末端或C末端与增加抗体的血清半衰期的酶或多肽的融合物。

修饰

[0338] 在某些实施方案中,通过例如以下方式改变抗体以增加或降低抗体被糖基化的程度:通过去除或插入一个或多个糖基化位点、通过改变氨基酸序列和/或通过修饰附接至糖基化位点的一个或多个寡糖(例如,使用特定细胞系)。

[0339] 示例性修饰、变体和细胞系描述于例如,专利公开号US 2003/0157108、US 2004/0093621、US 2003/0157108;WO 2000/61739;WO 2001/29246;US 2003/0115614;US 2002/0164328;US 2004/0093621;US 2004/0132140;US 2004/0110704;US 2004/0110282;US 2004/0109865;WO 2003/085119;WO 2003/084570;WO 2005/035586;WO 2005/035778;WO 2005/053742;WO 2002/031140;Okazaki等人J.Mol.Biol.336:1239-1249(2004);Yamane-Ohnuki等人Biotech.Bioeng.87:614(2004)。Ripka等人Arch.Biochem.Biophys.249:533-545(1986);美国专利申请号US 2003/0157108 A1,Presta,L;和WO 2004/056312 A1,Yamane-Ohnuki等人Biotech.Bioeng.87:614(2004);Kanda,Y.等人,Biotechnol.Bioeng.,94(4):680-688(2006);和WO 2003/085107;WO 2003/011878(Jean-Mairet等人);美国专利号6,602,684(Umana等人);和US 2005/0123546(Umana等人);WO 1997/30087(Patel等人);WO 1998/58964(Raju,S.);和WO 1999/22764(Raju,S.)中。

[0340] 经修饰的抗体包括在Fc区具有一种或多种氨基酸修饰的那些,如具有在一个或多个氨基酸位置处包含氨基酸修饰(例如,取代)的人Fc区序列或恒定区的其他部分(例如,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc区)的那些。

[0341] 可以进行此类修饰,例如以改善半衰期、改变与一种或多种类型的Fc受体的结合和/或改变效应子功能。

[0342] 变体还包括半胱氨酸工程化的抗体,如“thioMAb”和其他半胱氨酸工程化的变体,其中抗体的一个或多个残基被半胱氨酸残基取代,以便在可及位点处产生反应性硫醇基,例如用于缀合药剂和接头剂,以产生免疫缀合物。半胱氨酸工程化的抗体描述于例如美国专利号7,855,275和7,521,541中。

[0343] 在一些实施方案中,修饰抗体以含有另外的非蛋白质部分,包括水溶性聚合物。示例性聚合物包括但不限于聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚1,3-二氧戊环、聚1,3,6-三氧杂环己烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)和葡聚糖或聚(n-乙烯吡咯烷酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯化多元醇(例如,甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由于其在水中的稳定性而可以在制备中具有优势。所述聚合物可以具有任何分子量,并且可以有支链或无支链。附接至抗体的聚合物的数量可以变化,并且如果附接超过一种聚合物,则它们可以是相同或不同的分子。通常,用于衍生化的聚合物的数量

和/或类型可以基于包括但不限于以下的考虑因素来确定:要改善的抗体的特定特性或功能、抗体衍生物是否将要用于在确定条件下的疗法等。

II.嵌合抗原受体(CAR)和基因工程化细胞

[0344] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别嵌合抗原受体(CAR)(如含有源自靶抗体1或靶抗体2的抗原结合部分的抗BCMA CAR)的抗原结合部分。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体与细胞(如与过继细胞疗法结合使用的细胞)上表达的此类CAR结合。在一些实施方案中,所述细胞包括通过基因工程化引入的一种或多种核酸,并且由此表达这样的核酸的重组或基因工程化的CAR产物。在一些实施方案中,嵌合受体在被基因工程化至免疫细胞中时,可以调节T细胞活性,并且在一些情况下可以调节T细胞分化或稳态,由此产生在体内具有改善的寿命、存活和/或持久性的基因工程化的细胞,如用于过继细胞疗法方法中。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体可以用于调节这些活性中的一种或多种的方法,包括用于激活、刺激和/或扩增表达靶CAR的工程化细胞的方法。

[0345] 在一些实施方案中,细胞包括根据所提供的方法通过基因工程化引入的一种或多种核酸,从而表达此类核酸的重组或基因工程化产物。在一些实施方案中,所述核酸是异源的,即通常不存在于细胞或从细胞获得的样品中,如从另一种生物或细胞获得的核酸,例如,所述核酸通常不在被工程化的细胞和/或这种细胞所来源的生物中发现。在一些实施方案中,所述核酸不是天然存在的如自然界中未发现的核酸,包括包含编码来自多种不同细胞类型的各种结构域的核酸的嵌合组合的核酸。在特定实施方案中,所述核酸含有编码CAR的基因。

[0346] 在一些实施方案中,所提供的方法可以与用于制造或制备基因工程化细胞的一个或多个处理步骤同时、依次、或相伴随地进行。所述方法的处理步骤可包括多个细胞处理步骤中单独的或组合的任何一个或多个步骤。在特定实施方案中,所述处理步骤包括用一种或多种核酸(例如包含编码重组受体的基因的异源多核苷酸)转导或转染细胞。在某些实施方案中,用含有逆转录病毒载体(例如编码用于在细胞中表达的重组产物的载体)的病毒载体粒子转导细胞。在某些实施方案中,用一种或多种非病毒核酸(例如附加型质粒或转座子)转染细胞。所述方法可以进一步和/或可替代地包括其他处理步骤,例如细胞的分离、分开、选择、洗涤、悬浮、稀释、浓缩和/或配制的步骤。在一些情况下,所述方法还可以包括用于培育、刺激或扩增细胞(例如刺激细胞以诱导其增殖和/或激活)的离体步骤,在一些情况下,这可以按照所提供的方法进行。在一些实施方案中,所述方法包括从受试者分离细胞、将其制备、加工、培养和/或工程化,并在低温保存之前或之后将它们重新引入同一受试者体内。

[0347] 在一些实施方案中,所述方法包括按以下顺序进行的处理步骤,其中:首先从生物样品中分离(例如选择或分开)原代细胞;将所选择细胞与病毒载体粒子一起孵育以供转导;以及将转导的细胞配制于组合物中。在一些情况下,例如按照所提供的方法,例如通过在刺激试剂的存在下刺激,将转导的细胞离体激活、扩增或增殖。在一些实施方案中,所述方法可以包括来自洗涤、悬浮、稀释和/或浓缩细胞中的一个或多个处理步骤,其可以在分离(例如分开或选择)、转导、刺激和/或配制步骤中的一个或多个之前、期间或同时或之后进行。

[0348] 在特定实施方案中,在与一种或多种核酸接触之前不分离、选择或富集待转染或

转导的细胞。在一些实施方案中，在使细胞与一种或多种核酸接触之前不选择细胞。在一些实施方案中，在使细胞与一种或多种核酸接触之前不富集待转染或转导的细胞。

[0349] 在一些实施方案中，与结合所提供的方法制备、处理和/或孵育细胞结合(包括与制备含有基因工程化细胞的组合物结合)的一个或多个细胞处理步骤可以在离心室的内腔中进行，所述离心室例如基本上刚性的室，其通常为圆柱形并且可围绕旋转轴旋转，这与其他可用的方法相比可以提供某些优点。在一些实施方案中，所有处理步骤都在同一个离心室中进行。在一些实施方案中，一个或多个处理步骤在不同的离心室(例如相同类型的多个离心室)中进行。此类方法包括如国际公开号WO 2016/073602中所述的那些方法中的任一种。

[0350] 示例性离心室包括由Biosafe SA生产和销售的那些，包括用于Sepax®和Sepax®2系统的那些，包括A-200/F和A-200离心室以及用于此类系统的各种试剂盒。示例性室、系统和处理仪器和机柜描述于例如以下文献中：美国专利号6,123,655、美国专利号6,733,433和公开的美国专利申请公开号US 2008/0171951，以及公开的国际专利申请公开号WO 00/38762，将其各自的内容通过引用以其全文并入本文。取决于具体的过程(例如稀释、洗涤、转导、配制)，选择适合于所述过程的具体试剂盒在技术人员的水平内。用于此类系统的示例性试剂盒包括但不限于由BioSafe SA以产品名CS-430.1、CS-490.1、CS-600.1或CS-900.2销售的一次性试剂盒。

[0351] 在一些实施方案中，所述系统与其他仪器一起被包括和/或被放置与其他仪器联合，所述其他仪器包括用于操作、自动化、控制和/或监控所述系统中进行的各个处理步骤的各个方面的仪器。在一些实施方案中，这种仪器容纳于机柜中。在一些实施方案中，所述仪器包括机柜，所述机柜包括外壳，所述外壳含有控制电路、离心机、罩、电机、泵、传感器、显示器和用户界面。示例性装置描述于美国专利号6,123,655、美国专利号6,733,433和US 2008/0171951中。

[0352] 在一些实施方案中，所述系统包含一系列容器，例如袋、管路、旋塞、夹子、连接器和离心室。在一些实施方案中，容器(如袋)包括一个或多个容器(如袋)，其在同一容器或单独的容器(如同一袋或单独的袋)中含有待转导或转染的细胞和载体粒子(例如病毒载体粒子或非病毒质粒)。在一些实施方案中，所述系统还包括一个或多个容器(如袋)，所述容器含有介质，例如稀释剂和/或洗涤溶液，在所述方法期间将所述介质抽入室和/或其他部件中以稀释、重悬和/或洗涤组分和/或组合物。所述容器可以连接在系统中的一个或多个位置，例如连接在对应于输入管线、稀释剂管线、洗涤管线、废液管线和/或输出管线的位置。

[0353] 在一些实施方案中，所述系统(例如封闭的系统)是无菌的。在一些实施方案中，使系统部件的所有连接(例如管路管线与容器通过连接器的连接)都处于无菌条件下。在一些实施方案中，使连接处于层流下。在一些实施方案中，在管路与容器之间使用产生无菌连接的无菌连接装置(例如无菌焊接)进行连接。在一些实施方案中，无菌连接装置在足够高以维持无菌的热学条件下，例如在至少200℃、例如至少260℃或300℃的温度下实现连接。

[0354] 在一些实施方案中，所述系统可以是可弃式的，例如一次性试剂盒。在一些实施方案中，一次性试剂盒可以用于一个或多个过程的多个循环中，例如至少2、3、4、5或更多次，例如，在以连续或半连续方式进行的过程中。在一些实施方案中，所述系统(例如一次性试剂盒)用于处理来自单一患者的细胞。在所述方法的各方面，所述过程不需要在同一封闭系

统中(例如在同一离心室中)进行,而是可以在不同的封闭系统下(例如在不同的离心室中)进行;在一些实施方案中,此类不同的离心室位于方法中的各个点处,所述点被放置与同一系统相关联,例如被放置与同一离心机相关联。在一些实施方案中,所有处理步骤都是在封闭系统中进行,其中每一个或多个处理步骤的全部或亚组在同一或不同的离心室中进行。

A.靶嵌合抗原受体(CAR)

[0355] 在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别含有抗体或抗体片段的抗原结合结构域的靶CAR的胞外结构域,所述抗原结合结构域提供对所需抗原(例如,肿瘤抗原)的特异性,并且可操作地连接或连结至细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,所述CAR含有抗原结合结构域,其是如本文所提供的靶抗体或其抗原结合片段的抗原结合结构域。在一些实施方案中,所提供的抗独特型抗体结合或识别靶CAR的胞外结构域,其含有靶抗BCMA抗体或抗体片段的抗原结合结构域,所述抗原结合结构域提供对BCMA抗原(例如,在肿瘤上表达的)的特异性,并且可操作地连接或连结至细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,所述CAR包含抗原结合结构域,所述抗原结合结构域是如本文所提供的抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗原结合结构域,如第I部分所述。在一些实施方案中,所述抗原结合结构域包含靶抗体1或源自靶抗体1的部分的抗体片段。在一些实施方案中,所述抗原结合结构域包含靶抗体2或源自靶抗体2的部分的抗体片段。因此,在一些实施方案中,本文提供了结合或识别靶CAR的胞外结构域的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述胞外结构域含有靶抗体或其抗原结合片段,如靶抗体1或抗体2或其抗原结合片段。在一些实施方案中,细胞内信号传导结构域是激活细胞内结构域部分,如T细胞激活结构域,其提供初级激活信号。在一些实施方案中,所述细胞内信号传导结构域含有或另外含有共刺激信号传导结构域以促进效应子功能。在一些实施方案中,本文提供了结合或识别如例如WO 2019/090003(PCT/US 2018/058811)或WO 2016/090320(PCT/US 2015/064112)中所述的CAR的胞外结构域的抗独特型抗体或其抗原结合片段,将其内容通过引用并入本文。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合或识别如例如WO 2019/090003(PCT/US 2018/058811)或WO 2016/090320(PCT/US 2015/064112)中所述的CAR。在一些实施方案中,含有靶抗体或其抗原结合片段的本文提供的CAR是如例如WO 2019/090003(PCT/US 2018/058811)或WO 2016/090320(PCT/US 2015/064112)中所述的抗BCMA CAR。

[0356] 在一些实施方案中,提供了工程化的细胞(如T细胞),其表达对特定抗原(或标记物或配体,如在特定细胞类型的表面上表达的抗原)具有特异性的CAR。在一些实施方案中,所述抗原是多肽。在一些实施方案中,其是碳水化合物或其他分子。在一些实施方案中,与正常或非靶向细胞或组织相比,所述抗原在疾病或病症的细胞(例如,肿瘤或致病细胞)上选择性表达或过表达。在其他实施方案中,所述抗原在正常细胞上表达和/或在工程化细胞上表达。

[0357] 在特定实施方案中,重组受体(如嵌合受体)含有细胞内信号传导区域,所述细胞内信号传导区域包括胞质信号传导结构域(也可互换地称为细胞内信号传导结构域),例如能够在T细胞中诱导初级激活信号的胞质(细胞内)区域,例如,T细胞受体(TCR)组分的胞质信号传导结构域(例如CD3-zeta(CD3ζ)链的ζ链的胞质信号传导结构域或其功能变体或信号传导部分);所述细胞内信号传导区域包含基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)。

[0358] 在一些实施方案中,所述嵌合受体进一步含有结合或识别配体(例如抗原)的胞外

配体结合结构域。在一些实施方案中，所述嵌合受体是含有结合或识别抗原的胞外抗原识别结构域的CAR。在一些实施方案中，所述配体(如抗原)是在细胞表面上表达的蛋白质。在一些实施方案中，所述CAR是TCR样CAR，并且所述抗原是加工过的肽抗原，如细胞内蛋白的肽抗原，其与TCR一样在主要组织相容性复合物(MHC)分子的背景下在细胞表面上被识别。

[0359] 示例性抗原受体(包括CAR)以及将此类抗原受体工程化并引入细胞中的方法包括例如以下文献中所述的那些：国际专利申请公开号WO 200014257、WO 2013126726、WO 2012/129514、WO 2014031687、WO 2013/166321、WO 2013/071154、WO 2013/123061，美国专利申请公开号US2002131960、US2013287748、US20130149337、美国专利号6,451,995、7,446,190、8,252,592、8,339,645、8,398,282、7,446,179、6,410,319、7,070,995、7,265,209、7,354,762、7,446,191、8,324,353、和8,479,118，以及欧洲专利申请号EP2537416；和/或以下文献中所述的那些：Sadelain等人，Cancer Discov.2013年4月；3(4)：388-398；Davila等人(2013)PLoS ONE 8(4)：e61338；Turtle等人，Curr.Opin.Immunol.，2012年10月；24(5)：633-39；Wu等人，Cancer，2012年3月18(2)：160-75。在一些方面，抗原受体包括如美国专利号7,446,190中所述的CAR，和国际专利申请公开号WO/2014055668A1中所述的那些。CAR的例子包括如在任何上述出版物中披露的CAR，所述出版物例如WO2014031687、美国专利号8,339,645、美国专利号7,446,179、US 2013/0149337、美国专利号7,446,190、美国专利号8,389,282；Kochenderfer等人，2013，Nature Reviews Clinical Oncology，10，267-276(2013)；Wang等人(2012)J.Immunother.35(9)：689-701；和Brentjens等人，Sci Transl Med.2013 5(177)。还参见WO 2014031687、美国专利号8,339,645、美国专利号7,446,179、US 2013/0149337、美国专利号7,446,190和美国专利号8,389,282。

[0360] 在一些实施方案中，CAR被构建为具有对特定抗原(或标记物或配体)的特异性，所述特定抗原例如为在过继疗法靶向的特定细胞类型中表达的抗原(例如癌症标记物)和/或旨在诱导衰减应答的抗原(例如在正常或未患病细胞类型上表达的抗原)。因此，CAR通常在其胞外部分中包括一种或多种抗原结合分子，例如一种或多种抗原结合片段、结构域或部分，或一种或多种抗体可变结构域，和/或抗体分子。在一些实施方案中，CAR包含抗体分子的一个或多个抗原结合部分，如源自单克隆抗体(mAb)的可变重链(VH)和可变轻链(VL)的单链抗体片段(scFv)。

[0361] 在一些实施方案中，所述抗体或其抗原结合部分作为CAR的一部分在细胞上表达。在一些实施方案中，在一些方面，所述胞外抗原结合结构域经由接头和/或一个或多个跨膜结构域与一个或多个细胞内信号传导组分连接。在一些实施方案中，此类分子通常可以模拟或类似通过天然抗原受体(如TCR)的信号，以及通过这种受体与共刺激受体的组合的信号。

[0362] 在一些实施方案中，所述CAR含有结合或识别在细胞表面上表达的BCMA(如完整抗原)的抗体或抗原结合片段(例如scFv)。在一些实施方案中，所述抗体或抗原结合片段(scFv)包含在靶抗体1中所含的CDR。

[0363] 在一些实施方案中，所述抗原是BCMA并且与抗BCMA抗体(如靶抗体1或源自靶抗体1的抗原结合片段或靶抗体2或源自靶抗体2的抗原结合片段)结合。

[0364] 在一些实施方案中，抗原结合蛋白、抗体及其抗原结合片段识别全长抗体的抗原。在一些实施方案中，抗体的重链和轻链可以是全长的或者可以是抗原结合部分(Fab、F

(ab')2、Fv或单链Fv片段(scFv))。在其他实施方案中,所述抗体重链恒定区选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE,特别是选自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4,更特别是IgG1(例如,人IgG1)。在另一个实施方案中,所述抗体轻链恒定区选自例如κ或λ,特别是κ。

[0365] 所提供的抗体包括抗体片段。"抗体片段"是指不同于完整抗体的分子,其包含完整抗体中结合完整抗体所结合抗原的一部分。抗体片段的例子包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')2;双抗体;线性抗体;可变重链(VH)区、单链抗体分子(如scFv)和单一结构域VH单一抗体;和由抗体片段形成的多特异性抗体。在特定实施方案中,抗体是包含可变重链区和/或可变轻链区的单链抗体片段,如scFv。

[0366] 术语"可变区"或"可变结构域"是指抗体重链或轻链中参与抗体与抗原的结合的结构域。天然抗体的重链和轻链的可变结构域(分别为VH和VL)通常具有相似的结构,每个结构域包含四个保守的框架区(FR)和三个CDR。(参见,例如Kindt等人Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman and Co.,第91页(2007))。单一VH或VL结构域可能足以赋予抗原结合特异性。此外,结合特定抗原的抗体可以使用来自结合所述抗原的抗体的VH或VL结构域来分离,以分别筛选互补的VL或VH结构域的文库。参见,例如Portolano等人,J.Immunol.150:880-887(1993);Clarkson等人,Nature 352:624-628(1991)。

[0367] 单结构域抗体是包含抗体的全部或部分重链可变结构域或者全部或部分轻链可变结构域的抗体片段。在某些实施方案中,单结构域抗体是人单结构域抗体。在一些实施方案中,CAR包含特异性结合抗原的抗体重链结构域,所述抗原是例如要靶向的细胞或疾病(如肿瘤细胞或癌细胞)的癌症标记物或细胞表面抗原,如本文所述或本领域已知的任何靶抗原。

[0368] 抗体片段可以通过各种技术制备,包括但不限于完整抗体的蛋白水解消化以及通过重组宿主细胞产生。在一些实施方案中,抗体是重组产生的片段,如包含天然不存在的排列的片段(如具有通过合成接头(例如,肽接头)连接的两个或更多个抗体区或链的那些),和/或可以不通过酶消化天然存在的完整抗体产生的片段。在一些实施方案中,所述抗体片段是scFv。

[0369] "人源化"抗体是如下抗体,其中所有或基本上所有CDR氨基酸残基都源自非人CDR并且所有或基本上所有FR氨基酸残基都源自人FR。人源化抗体任选地可以包括源自人抗体的抗体恒定区的至少一部分。非人抗体的"人源化形式"是指非人抗体的变体,其已经经历人源化以通常降低对人的免疫原性,同时保留亲本非人抗体的特异性和亲和力。在一些实施方案中,人源化抗体中的一些FR残基被来自非人抗体(例如,衍生出CDR残基的抗体)的相应残基取代,例如以恢复或改善抗体特异性或亲和力。

[0370] 嵌合受体(如CAR)通常包括胞外抗原结合结构域,如抗体分子(例如靶抗体1或靶抗体2)的一部分,通常是抗体的可变重(VH)链区和/或可变轻(VL)链区,例如scFv抗体片段。

[0371] 在一些实施方案中,嵌合抗原受体包括含有抗体或抗体片段的胞外部分。在一些方面,嵌合抗原受体包括含有抗体或片段的胞外部分和细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,所述抗体或片段包括scFv。在一些实施方案中,所述scFv源自靶抗体1并且包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述scFv源自靶抗体2并且包含SEQ

ID NO:27所示的氨基酸序列。

[0372] 在一些实施方案中,重组受体(如CAR,如其抗体部分)进一步包括间隔子,所述间隔子可以是或包括免疫球蛋白恒定区的至少一部分或其变体或经修饰形式,如铰链区(例如,IgG4铰链区)和/或CH1/CL和/或Fc区。在一些实施方案中,恒定区或部分是人IgG(如IgG4或IgG1)的恒定区或部分。在一些方面,恒定区的部分用作抗原识别组分(例如,scFv)与跨膜结构域之间的间隔子区。与不存在间隔子的情况下相比,间隔子的长度可以提供抗原结合后增强的细胞反应性。在一些例子中,间隔子具有为或约12个氨基酸的长度或者具有不超过12个氨基酸的长度。示例性间隔子包括具有以下氨基酸的那些:至少约10至229个氨基酸、约10至200个氨基酸、约10至175个氨基酸、约10至150个氨基酸、约10至125个氨基酸、约10至100个氨基酸、约10至75个氨基酸、约10至50个氨基酸、约10至40个氨基酸、约10至30个氨基酸、约10至20个氨基酸或约10至15个氨基酸,并且包括任何列出的范围的端点之间的任何整数。在一些实施方案中,间隔子区具有约12个或更少的氨基酸、约119个或更少的氨基酸、或约229个或更少的氨基酸。示例性间隔子包括仅IgG4铰链、与CH2和CH3结构域连接的IgG4铰链或与CH3结构域连接的IgG4铰链。在一些实施方案中,间隔子具有SEQ ID NO:50所示的序列。.在一些实施方案中,所述间隔子包含铰链区、$C_H2$区和$C_H3$区的序列。在一些实施方案中,所述铰链、$C_H2$和$C_H3$中的一个或多个全部或部分源自IgG4或IgG2。在一些情况下,所述铰链、$C_H2$和$C_H3$源自IgG4。在一些方面,所述铰链、$C_H2$和$C_H3$中的一个或多个是嵌合的并且含有源自IgG4和IgG2的序列。在一些例子中,间隔子含有IgG4/2嵌合铰链、IgG2/4$C_H2$区、和IgG4 $C_H3$区。在一些实施方案中,所编码的间隔子是或含有(i)SEQ ID NO:50所示的序列;(ii)SEQ ID NO:50的功能变体,其与SEQ ID NO:50具有至少95%、96%、97%、98%或99%序列同一性;或(iii)(i)或(ii)的长度为至少125个氨基酸的连续部分。在一些实施方案中,所编码的间隔子是或包含SEQ ID NO:50所示的序列。示例性间隔子包括但不限于以下文献中所述的那些:Hudecek等人(2013)Clin.Cancer Res.,19:3153;国际专利申请公开号WO 2014031687、美国专利号8,822,647、公开的申请号US2014/0271635、WO 2019/090003(PCT/US 2018/058811)或WO 2016/090320(PCT/US 2015/064112),将其内容通过引用并入本文。

[0373] 在一些实施方案中,抗原受体包含与胞外结构域直接或间接连接的细胞内结构域。在一些实施方案中,嵌合抗原受体包括连接胞外结构域和细胞内信号传导结构域的跨膜结构域。在一些实施方案中,所述跨膜结构域与胞外结构域融合。在一些实施方案中,所述细胞内信号传导结构域包含ITAM。例如,在一些方面,所述抗原识别结构域(例如胞外结构域)通常与一种或多种细胞内信号传导组分(如在CAR的情况下模拟经由抗原受体复合物(如TCR复合物)进行激活和/或经由另一种细胞表面受体传导信号的信号传导组分)连接。在一些实施方案中,所述嵌合受体包含在胞外结构域(例如scFv)与细胞内信号传导结构域之间连接或融合的跨膜结构域。因此,在一些实施方案中,所述抗原结合组分(例如,抗体)与一种或多种跨膜结构域和细胞内信号传导结构域连接。

[0374] 在一个实施方案中,使用与受体(例如CAR)中的结构域之一天然地缔合的跨膜结构域。在一些情况下,通过氨基酸取代选择或修饰跨膜结构域,以避免这样的结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合,以使与受体复合物的其他成员的相互作用最小化。

[0375] 在一些实施方案中,所述跨膜结构域源自天然或合成来源。当来源是天然的时,在

一些方面，所述结构域可以源自任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。跨膜区包括源自以下的那些(即至少包含以下的跨膜区)：T细胞受体的α、β或ζ链，CD28，CD3ε，CD45，CD4，CD5，CD8，CD9，CD 16，CD22，CD33，CD37，CD64，CD80，CD86，CD 134，CD137，CD 154。可替代地，在一些实施方案中，跨膜结构域是合成的。在一些方面，合成跨膜结构域主要包含疏水性残基，如亮氨酸和缬氨酸。在一些方面，将在合成跨膜结构域的每个末端发现苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三联体。在一些实施方案中，所述连接是通过接头、间隔子和/或一个或多个跨膜结构域来实现。在一些方面，跨膜结构域含有CD28的跨膜部分。

[0376] 在一些实施方案中，胞外结构域和跨膜结构域可以直接或间接连接。在一些实施方案中，胞外结构域和跨膜通过间隔子(如本文描述的任何间隔子)连接。在一些实施方案中，受体含有衍生出跨膜结构域的分子的胞外部分，如CD28胞外部分。

[0377] 细胞内信号传导结构域包括模拟或接近以下的那些：通过天然抗原受体的信号、通过这种受体与共刺激受体的组合的信号、和/或仅通过共刺激受体的信号。在一些实施方案中，短的寡肽或多肽接头(例如，长度在2与10个氨基酸之间的接头，如含有甘氨酸和丝氨酸的接头，例如甘氨酸-丝氨酸双联体)存在于CAR的跨膜结构域与细胞质信号传导结构域之间并在其间形成连接。

[0378] 在一些方面，将T细胞激活描述为由两个类别的胞质信号传导序列来介导：通过TCR起始抗原依赖性初级激活的那些(初级胞质信号传导序列)，以及以非抗原依赖性方式作用以提供次级或共刺激信号的那些(次级胞质信号传导序列)。在一些方面，CAR包括这样的信号传导组分中的一种或两种。

[0379] 受体(例如，CAR)通常包括至少一种或多种细胞内信号传导组分。在一些方面，CAR包括调节TCR复合物的初级激活的初级胞质信号传导序列。以刺激方式起作用的初级胞质信号传导序列可以含有信号传导基序(其称为免疫受体酪氨酸激活基序或ITAM)。含有ITAM的初级胞质信号传导序列的例子包括源自CD3ζ链、FcRγ、CD3γ、CD3δ和CD3ε的那些。在一些实施方案中，CAR中的一种或多种胞质信号传导分子含有源自CD3ζ的胞质信号传导结构域、其部分或序列。

[0380] 在一些实施方案中，受体包括TCR复合物的细胞内组分，如介导T细胞激活和细胞毒性的TCR CD3链，例如CD3ζ链。因此，在一些方面，所述抗原结合部分与一个或多个细胞信号传导模块连接。在一些实施方案中，细胞信号传导模块包括CD3跨膜结构域、CD3细胞内信号传导结构域和/或其他CD跨膜结构域。在一些实施方案中，受体(例如，CAR)还包括一种或多种另外的分子(如Fc受体γ、CD8、CD4、CD25或CD16)的一部分。例如，在一些方面，CAR或其他嵌合受体包括CD3-zeta(CD3-ζ)或Fc受体γ与CD8、CD4、CD25或CD16之间的嵌合分子。

[0381] 在一些实施方案中，在连接CAR或其他嵌合受体后，所述受体的胞质结构域或细胞内信号传导结构域激活免疫细胞(例如工程化以表达所述CAR的T细胞)的正常效应子功能或应答中的至少一种。例如，在一些情况下，CAR诱导T细胞的功能，如细胞溶解活性或T辅助活性，如细胞因子或其他因子的分泌。在一些实施方案中，使用抗原受体组分或共刺激分子的细胞内信号传导结构域的截短部分(例如，如果其转导效应子功能信号的话)代替完整的免疫刺激链。在一些实施方案中，所述一个或多个细胞内信号传导结构域包括T细胞受体(TCR)的胞质序列，并且在一些方面还包括共受体(其在天然背景下与此类受体并行起作用以在抗原受体接合后启动信号转导)和/或此类分子的任何衍生物或变体的那些，和/或具

有相同功能能力的任何合成序列。

[0382] 在天然TCR的情况下，完全激活通常不仅需要经由TCR进行信号传导，还需要共刺激信号。因此，在一些实施方案中，为了促进完全激活，用于生成次级或共刺激信号的组分也被包括在所述CAR中。在其他实施方案中，CAR不包括用于生成共刺激信号的组分。在一些方面，另外的CAR在同一细胞中表达，并且提供用于生成次级或共刺激信号的组分。

[0383] 在一些方面，将T细胞激活描述为由两个类别的胞质信号传导序列来介导：通过TCR起始抗原依赖性初级激活的那些(初级胞质信号传导序列)，以及以非抗原依赖性方式作用以提供次级或共刺激信号的那些(次级胞质信号传导序列)。在一些方面，CAR包括这样的信号传导组分中的一种或两种。

[0384] 在一些实施方案中，所述嵌合抗原受体含有T细胞共刺激分子的细胞内结构域。在一些实施方案中，CAR包括共刺激受体(如CD28、4-1BB、OX40、DAP10和ICOS)的信号传导结构域和/或跨膜部分。在一些方面，相同的CAR包括激活组分和共刺激组分两者。在一些实施方案中，嵌合抗原受体含有源自T细胞共刺激分子的细胞内结构域或其功能变体，如位于跨膜结构域与细胞内信号传导结构域之间。在一些方面，T细胞共刺激分子是CD28或41BB。

[0385] 在一些实施方案中，激活结构域包括于一个CAR内，而共刺激组分是由识别另一种抗原的另一种CAR提供。在一些实施方案中，所述CAR包括均在同一细胞上表达的激活或刺激CAR、共刺激CAR(参见WO 2014/055668)。在一些方面，所述细胞包括一种或多种刺激或激活性CAR和/或共刺激CAR。在一些实施方案中，细胞还包括抑制性CAR(iCAR，参见Fedorov等人，Sci.Transl.Medicine,5(215)(2013年12月)，如识别除了与疾病或病症相关和/或对所述疾病或病症具有特异性的抗原以外的抗原的CAR，其中通过靶向疾病的CAR递送的激活信号由于抑制性CAR与其配体的结合而有所减小或被抑制，例如以减小脱靶效应。

[0386] 在某些实施方案中，细胞内信号传导结构域包含与CD3(例如，CD3-ζ)细胞内结构域连接的CD28跨膜和信号传导结构域。在一些实施方案中，细胞内信号传导结构域包含连接至CD3ζ细胞内结构域的嵌合CD28和CD137(4-1BB，TNFRSF9)共刺激结构域。

[0387] 在一些实施方案中，CAR涵盖在胞质部分中的一个或多个(例如，两个或更多个)共刺激结构域和激活结构域(例如，初级激活结构域)。示例性CAR包括CD3ζ、CD28和4-1BB的细胞内组分。

[0388] 在一些实施方案中，抗原受体还包括标记物，和/或表达CAR或其他抗原受体的细胞还包括替代标记物，如细胞表面标记物，所述替代标记物可以用于确认细胞被转导或工程化以表达受体。在一些方面，所述标记物包括全部或部分(例如，截短形式)的CD34、NGFR或表皮生长因子受体，如这种细胞表面受体的截短形式(例如，tEGFR)。在一些实施方案中，编码所述标记物的核酸与编码接头序列(如可切割的接头序列，例如T2A)的多核苷酸可操作地连接。例如，标记物以及任选地接头序列可以是如公开的专利申请号WO 2014031687中所披露的任一种。例如，所述标记物可以是截短的EGFR(tEGFR)，其任选地连接至接头序列，如T2A可切割接头序列。在实施方案中，所述tEGFR包含SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述tEGFR含有与SEQ ID NO:51所示的序列具有为或约75％、76％、77％、78％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或大于99％序列同一性的氨基酸序列。

[0389] 在一些实施方案中，标记物是并非在T细胞上天然发现的或并非在T细胞表面上天

然发现的分子(例如,细胞表面蛋白)或其部分。在一些实施方案中,分子是非自身分子,例如非自身蛋白,即不被将过继转移细胞的宿主的免疫系统识别为“自身”的分子。

[0390] 在一些实施方案中,所述标记物不提供任何治疗功能和/或不产生除了用作基因工程化标记物(例如,用于选择成功工程化的细胞)以外的作用。在其他实施方案中,所述标记物可以是治疗性分子或以其他方式发挥一些所需作用的分子,如在体内会遇到的细胞的配体,如用于在过继转移和遇到配体时增强和/或减弱细胞反应的共刺激或免疫检查点分子。

[0391] 在一些情况下,CAR被称为第一代、第二代和/或第三代CAR。在一些方面,第一代CAR是在抗原结合时仅提供CD3链诱导的信号的CAR;在一些方面,第二代CAR是提供这种信号和共刺激信号的CAR,如包括来自共刺激受体如CD28或CD137的细胞内信号传导结构域的信号;在一些方面,第三代CAR是包括不同共刺激受体的多个共刺激结构域的CAR。

[0392] 在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体包含含有本文所述的抗体或片段的胞外部分,所述抗体或片段是例如靶抗体或其抗原结合片段,如靶抗体1或靶抗体2或其抗原结合片段或如WO 2019/090003(PCT/US 2018/058811)或WO 2016/090320(PCT/US2015/064112)中所述的抗BCMA抗体或其抗原结合片段,将其内容通过引用并入本文。在一些方面,嵌合抗原受体包括含有本文所述的抗体或片段的胞外部分和细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,所述抗体或片段包括scFv或单结构域$V_H$抗体,并且细胞内结构域含有ITAM。在一些方面,所述细胞内信号传导结构域包括CD3-zeta(CD3ζ)链的ζ链的信号传导结构域。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体包括设置在胞外结构域与细胞内信号传导区之间的跨膜结构域。

[0393] 在一些方面,跨膜结构域含有CD28的跨膜部分。胞外结构域和跨膜可以直接或间接连接。在一些实施方案中,胞外结构域和跨膜通过间隔子(如本文描述的任何间隔子)连接。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体含有T细胞共刺激分子的细胞内结构域,如在跨膜结构域与细胞内信号传导结构域之间。在一些方面,所述T细胞共刺激分子是CD28或4-1BB。

[0394] 例如,在一些实施方案中,所述CAR含有抗体(例如,抗体片段)、是或含有CD28或其功能变体的跨膜部分的跨膜结构域、以及含有CD28的信号传导部分或其功能变体和CD3ζ的信号传导部分或其功能变体的细胞内信号传导结构域。在一些实施方案中,CAR含有抗体(例如抗体片段)、是或含有CD28的跨膜部分或其功能变体的跨膜结构域、以及含有4-1BB的信号传导部分或其功能变体和CD3ζ的信号传导部分或其功能变体的细胞内信号传导结构域。在一些这样的实施方案中,受体还包括间隔子,其含有Ig分子(如人Ig分子)的一部分,如Ig铰链,例如IgG4铰链,如仅铰链间隔子。

[0395] 在一些实施方案中,所述受体(例如CAR)的跨膜结构域是人CD28的跨膜结构域(例如人CD28(登录号:P10747.1)的27个氨基酸的跨膜结构域)或其变体,或是包含SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:96展现出至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高序列同一性的氨基酸序列的跨膜结构域。

[0396] 在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体含有T细胞共刺激分子的细胞内结构域。在一些方面,所述T细胞共刺激分子是CD28或4-1BB。

[0397] 在一些实施方案中，所述细胞内信号传导区包含人CD28的细胞内共刺激信号传导结构域或其功能变体或部分，如其41个氨基酸的结构域，和/或在天然CD28蛋白的位置186-187处具有LL至GG取代的这种结构域。在一些实施方案中，细胞内信号传导结构域可以包含SEQ ID NO:97或98所示的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:97或98展现至少85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更高序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，细胞内区域包含4-1BB的细胞内共刺激信号传导结构域或其功能变体或部分，如人4-1BB(登录号Q07011.1)的42个氨基酸的胞质结构域或其功能变体或部分，如SEQ ID NO:99所示的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:99展现至少85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0398] 在一些实施方案中，所述细胞内信号传导区包含人CD3链、任选地CD3ζ刺激信号传导结构域或其功能变体，如人CD3ζ(登录号:P20963.2)的亚型3的112个AA的胞质结构域或如美国专利号7,446,190或美国专利号8,911,993中所述的CD3ζ信号传导结构域。在一些实施方案中，细胞内信号传导区包含SEQ ID NO:100所示的氨基酸序列或者与SEQ ID NO:100展现至少85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或更高序列同一性的氨基酸序列。

[0399] 在一些方面，所述间隔子仅含有IgG的铰链区，如仅IgG4或IgG1的铰链，如SEQ ID NO:101中所示的仅铰链间隔子。在其他实施方案中，所述间隔子是与$C_H2$和/或$C_H3$结构域连接的Ig铰链，例如IgG4铰链。在一些实施方案中，所述间隔子是与$C_H2$和$C_H3$结构域连接的Ig铰链，例如IgG4铰链，如SEQ ID NO:103所示。在一些实施方案中，间隔子是仅与$C_H3$结构域连接的Ig铰链，例如IgG4铰链，如SEQ ID NO:102所示。在一些实施方案中，间隔子是或包含富甘氨酸-丝氨酸的序列或其他柔性接头，如已知的柔性接头。

[0400] 例如，在一些实施方案中，CAR包括抗体(如抗体片段，包括scFv)、间隔子(如含有免疫球蛋白分子的一部分(如铰链区和/或重链分子的一个或多个恒定区)的间隔子，如含有Ig铰链的间隔子)、含有CD28衍生的跨膜结构域的全部或部分的跨膜结构域、CD28衍生的细胞内信号传导结构域和CD3ζ信号传导结构域。在一些实施方案中，CAR包括抗体或片段(如scFv)、间隔子(如任何含Ig铰链的间隔子)、CD28衍生的跨膜结构域、4-1BB衍生的细胞内信号传导结构域和CD3ζ衍生的信号传导结构域。

[0401] 在一些实施方案中，编码这样的CAR构建体的核酸分子例如在编码CAR的序列的下游还包括编码T2A核糖体跳跃元件的序列和/或tEGFR序列。在一些实施方案中，还可以产生表达抗原受体(例如CAR)的T细胞以表达截短的EGFR(EGFRt)作为非免疫原性选择表位(例如，通过引入编码由T2A核糖体开关隔开的CAR和EGFRt的构建体以从相同构建体表达两种蛋白质)，然后可以使用所述截短的EGFR作为标记物来检测这样的细胞(参见例如，美国专利号8,802,374)。在一些实施方案中，单一启动子可以指导RNA的表达，所述RNA在单个开放阅读框(ORF)中含有两个或三个基因(例如，编码参与调节代谢途径的分子和编码重组受体)，所述基因由编码自切割肽(例如2A序列)或蛋白酶识别位点(例如弗林蛋白酶(furin))的序列彼此分开。ORF由此编码单一多肽，所述多肽在翻译期间(在2A的情况下)或在翻译后被处理为单独蛋白质。在一些情况下，肽(如T2A)可导致核糖体跳过2A元件C末端处肽键的合成(核糖体跳跃)，导致2A序列末端与下游的下一个肽之间分开(参见例如，de

Felipe.Genetic Vaccines and Ther.2:13(2004)和deFelipe等人Traffic 5:616-626(2004))。许多2A元件在本领域是已知的。可以用于本文公开的方法和核酸中的2A序列的例子包括但不限于来自以下的的2A序列:口蹄疫病毒(F2A,例如SEQ ID NO:132)、马鼻炎A病毒(E2A,例如SEQ ID NO:130)、明脉扁刺蛾β四体病毒(Thosea asigna virus)(T2A,例如SEQ ID NO:127或134)以及猪捷申病毒-1(P2A,例如SEQ ID NO:128或129),如美国专利公开号20070116690中所述。

[0402] 由向受试者施用的细胞表达的重组受体(如CAR)通常识别或结合在所治疗的疾病或病症或其细胞中表达、与所治疗的疾病或病症或其细胞相关和/或为所治疗的疾病或病症或其细胞所特有的分子。在与分子(例如,抗原)结合(例如特异性结合)后,所述受体通常将免疫刺激信号(如ITAM转导的信号)递送至细胞中,从而促进靶向疾病或病症的免疫应答。例如,在一些实施方案中,所述细胞表达与抗原结合的CAR,所述抗原由所述疾病或病症的细胞或组织表达或与所述疾病或病症相关。所述受体可以是另一种受体,如免疫抑制性或共刺激信号促进受体(如CCR或iCAR或非信号传导受体),例如以用于使用所述抗体耗尽或消除细胞。

B.基因工程化细胞和产生细胞的方法

[0403] 表达所述嵌合抗原受体的细胞包括工程化细胞。基因工程通常涉及将编码重组或工程化组分的核酸引入含有细胞的组合物中,如通过逆转录病毒转导、转染或转化。用于引入基因工程化组分(例如,重组受体,例如,CAR)的各种方法是熟知的,并且可以使用。示例性方法包括用于转移编码受体的核酸的那些,包括通过病毒(如逆转录病毒或慢病毒)、转导、转座子和电穿孔来进行。

1.用于基因工程化的载体和方法

[0404] 还提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的一种或多种多核苷酸(例如,核酸分子)、用于将细胞基因工程化以表达此类CAR的载体以及用于产生所述工程化细胞的方法。在一些实施方案中,所述载体含有编码所述CAR的核酸。在一些情况下,所述载体是病毒载体,如逆转录病毒载体,例如慢病毒载体或γ逆转录病毒载体。

[0405] 在一些实施方案中,使用重组感染性病毒颗粒(如例如源自猿猴病毒40(SV40)、腺病毒、腺相关病毒(AAV)的载体)将重组核酸转移至细胞中。在一些实施方案中,使用重组慢病毒载体或逆转录病毒载体(如γ-逆转录病毒载体)将重组核酸转移到T细胞中(参见例如Koste等人(2014)Gene Therapy 2014年4月3日.doi:10.1038/gt.2014.25;Carlens等人(2000)Exp Hematol 28(10):1137-46;Alonso-Camino等人(2013)Mol Ther Nucl Acids 2,e93;Park等人,Trends Biotechnol.2011年11月29日(11):550-557)。

[0406] 在一些实施方案中,所述逆转录病毒载体具有长末端重复序列(LTR),例如源自莫洛尼鼠白血病病毒(MoMLV)、骨髓增生性肉瘤病毒(MPSV)、鼠胚胎干细胞病毒(MESV)、鼠干细胞病毒(MSCV)、脾病灶形成病毒(SFFV)或腺相关病毒(AAV)的逆转录病毒载体。大多数逆转录病毒载体源自鼠逆转录病毒。在一些实施方案中,所述逆转录病毒包括源自任何禽类或哺乳动物细胞来源的那些。所述逆转录病毒通常是双嗜性的,这意味着它们能够感染包括人在内的若干种物种的宿主细胞。在一个实施方案中,待表达的基因替代逆转录病毒gag、pol和/或env序列。已经描述了许多例示性逆转录病毒系统(例如,美国专利号5,219,740、6,207,453、5,219,740;Miller和Rosman(1989)BioTechniques 7:980-990;Miller,

A.D.(1990)Human Gene Therapy 1:5-14;Scarpa等人(1991)Virology 180:849-852;Burns等人(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:8033-8037;以及Boris-Lawrie和Temin(1993)Cur.Opin.Genet.Develop.3:102-109。

[0407] 慢病毒转导的方法是已知的。示例性方法描述于例如以下文献中:Wang等人(2012)J.Immunother.35(9):689-701;Cooper等人(2003)Blood.101:1637-1644;Verhoeyen等人(2009)Methods Mol Biol.506:97-114;以及Cavalieri等人(2003)Blood.102(2):497-505。

[0408] 在一些实施方案中,通过电穿孔将重组核酸转移到T细胞中(参见例如Chicaybam等人,(2013)PLoS ONE 8(3):e60298;以及Van Tedeloo等人(2000)Gene Therapy 7(16):1431-1437)。在一些实施方案中,通过转座将重组核酸转移到T细胞中(参见例如Manuri等人(2010)Hum Gene Ther 21(4):427-437;Sharma等人(2013)Molec Ther Nucl Acids 2,e74;以及Huang等人(2009)Methods Mol Biol 506:115-126)。在免疫细胞中引入和表达遗传物质的其他方法包括磷酸钙转染(例如,如在Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley&Sons,New York.N.Y.中所述)、原生质体融合、阳离子脂质体介导的转染;钨粒子促进的微粒轰击(Johnston,Nature,346:776-777(1990));以及磷酸锶DNA共沉淀(Brash等人,Mol.Cell Biol.,7:2031-2034(1987))。

[0409] 用于转移编码所述重组产物的核酸的其他方法和载体是例如在国际专利申请公开号WO 2014055668和美国专利号7,446,190中所述的那些。

[0410] 在一些实施方案中,可以在扩增期间或之后例如用T细胞受体(TCR)或嵌合抗原受体(CAR)对细胞(例如,T细胞)进行转染。例如,用于引入所需受体的基因的该转染可以用任何合适的逆转录病毒载体进行。然后可以使遗传修饰的细胞群摆脱初始刺激物(例如,抗CD3/抗CD28刺激物),随后用第二类型的刺激物例如经由从头引入的受体进行刺激。这种第二类型的刺激物可以包括呈肽/MHC分子形式的抗原性刺激物、遗传引入的受体的同源(交联)配体(例如,CAR的天然配体)或在新受体的框架内直接结合(例如,通过识别受体内的恒定区)的任何配体(如抗体)。参见例如,Cheadle等人,"Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy"Methods Mol Biol.2012;907:645-66或Barrett等人,Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine第65卷:333-347(2014)。在一些实施方案中,根据所提供的方法,用所提供的抗独特型抗体刺激所述细胞。

[0411] 在一些情况下,可以使用不需要激活细胞(例如,T细胞)的载体。在一些此类情况下,可以在激活之前选择和/或转导细胞。因此,可以在培养细胞之前或之后,并且在一些情况下在培养的至少一部分的同时或期间,将细胞工程化。

[0412] 另外的核酸(例如,用于引入的基因)包括:用于改进治疗功效的那些,如通过促进所转移细胞的活力和/或功能;用于提供用于选择和/或评价细胞(如用于评估体内存活或定位)的遗传标记物的基因;用于改进安全性的基因,例如通过使细胞在体内对阴性选择敏感,如以下文献中所述:Lupton S.D.等人,Mol.and Cell Biol.,11:6(1991);和Riddell等人,Human Gene Therapy 3:319-338(1992);还参见Lupton等人的PCT/US91/08442和PCT/US94/05601的公开,所述文献描述了使用通过将显性阳性选择性标记物与阴性选择性标记物融合而衍生的双功能选择性融合基因。参见例如,Riddell等人,美国专利号6,040,177,第14-17栏。

2.用于基因工程化的细胞和细胞的制备

[0413] 本文提供了细胞,包括含有嵌合抗原受体(CAR)的工程化细胞。还提供了此类细胞的群体和含有此类细胞的组合物。组合物包括含有细胞的输入组合物,其中一种或多种细胞已知或可能或将表达重组受体,所述重组受体能够由存在于与细胞一起孵育或接触的一个或多个颗粒上的结合分子识别或结合。组合物还包括通过所提供的方法产生的组合物,包括其中含有刺激或扩增的细胞的输出组合物,包括富集含有由颗粒的结合分子结合或识别的重组受体的细胞的组合物,例如其中表达重组受体(例如嵌合受体)的细胞组成组合物中的总细胞的或者某种类型的细胞(例如T细胞或CD8+或CD4+细胞)的至少50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高百分比。因此,提供了表达重组受体(例如,CAR)的基因工程化细胞。

[0414] 所述组合物包括用于施用(如用于过继细胞疗法)的药物组合物和配制品。还提供了用于工程化、生产或产生此类细胞的方法,用于将所述细胞和组合物给予受试者(例如,患者)的治疗方法,以及用于检测、选择、分离或分开此类细胞的方法。

[0415] 在一些实施方案中,所述核酸是异源的,即通常不存在于细胞或从细胞获得的样品中,如从另一种生物或细胞获得的核酸,例如,所述核酸通常不在被工程化的细胞和/或这种细胞所来源的生物中发现。在一些实施方案中,所述核酸不是天然存在的如自然界中未发现的核酸,包括包含编码来自多种不同细胞类型的各种结构域的核酸的嵌合组合的核酸。

[0416] 所述细胞通常是真核细胞,如哺乳动物细胞,并且通常是人细胞。在一些实施方案中,所述细胞源自血液、骨髓、淋巴或淋巴器官,是免疫系统的细胞,如先天或适应性免疫的细胞,例如骨髓或淋巴细胞,包括淋巴细胞,通常为T细胞和/或NK细胞。其他示例性细胞包括干细胞,如多潜能干细胞和多能干细胞,包括诱导多能干细胞(iPSC)。

[0417] 细胞通常是原代细胞,如直接从受试者分离和/或从受试者分离并冷冻的那些。在一些实施方案中,细胞包括T细胞或其他细胞类型的一个或多个子集,如整个T细胞群、CD4+细胞、CD8+细胞及其亚群,如由以下项所定义的那些:功能、激活状态、成熟度、分化的可能性、扩增、再循环、定位和/或持久能力、抗原特异性、抗原受体类型、在特定器官或区室中的存在、标记物或细胞因子分泌特征和/或分化程度。关于待治疗的受试者,所述细胞可以是同种异体的和/或自体的。所述方法包括现成的方法。在一些方面,如对于现成的技术,细胞是多能和/或多潜能的,如干细胞,如诱导多能干细胞(iPSC)。在一些实施方案中,所述方法包括从受试者分离细胞、将其制备、加工、培养和/或工程化,并在低温保存之前或之后将它们重新引入同一受试者体内。

[0418] T细胞和/或CD4+和/或CD8+T细胞的亚型和亚群包括幼稚T($T_N$)细胞、效应T细胞($T_{EFF}$)、记忆T细胞及其亚型(如干细胞记忆T($T_{SCM}$)、中枢记忆T($T_{CM}$)、效应记忆T($T_{EM}$)或终末分化效应记忆T细胞)、肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)、未成熟T细胞、成熟T细胞、辅助T细胞、细胞毒性T细胞、粘膜相关恒定T(MAIT)细胞、天然存在和适应性调节T(Treg)细胞、辅助T细胞(如TH1细胞、TH2细胞、TH3细胞、TH17细胞、TH9细胞、TH22细胞、滤泡辅助T细胞)、α/βT细胞和δ/γT细胞。

[0419] 在一些实施方案中,所述细胞是自然杀伤(NK)细胞。在一些实施方案中,所述细胞是单核细胞或粒细胞,例如,骨髓细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、树突细胞、肥大细胞、嗜酸

性粒细胞和/或嗜碱性粒细胞。

[0420] 在一些实施方案中，所述细胞包括通过基因工程化引入的一种或多种核酸，并且由此表达这样的核酸的重组或基因工程化的产物。在一些实施方案中，所述核酸是异源的，即通常不存在于细胞或从细胞获得的样品中，如从另一种生物或细胞获得的核酸，例如，所述核酸通常不在被工程化的细胞和/或这种细胞所来源的生物中发现。在一些实施方案中，所述核酸不是天然存在的如自然界中未发现的核酸，包括包含编码来自多种不同细胞类型的各种结构域的核酸的嵌合组合的核酸。

[0421] 在一些实施方案中，工程化细胞的制备包括一个或多个培养和/或制备步骤。用于引入编码转基因受体如CAR的核酸的细胞可以从样品(如生物样品，例如从受试者获得或来源于受试者的生物样品)分离。在一些实施方案中，分离出细胞的受试者是患有疾病或病症或需要细胞疗法或将对其施用细胞疗法的受试者。在一些实施方案中，受试者是需要特定治疗性干预(如过继细胞疗法，其中细胞被分离、加工和/或工程化)的人。

[0422] 因此，在一些实施方案中，所述细胞是原代细胞，例如原代人细胞。样品包括直接取自受试者的组织、流体和其他样品、以及来源于一个或多个加工步骤(如分离、离心、基因工程化(例如，用病毒载体转导)、洗涤和/或孵育)的样品。生物样品可以是直接从生物来源获得的样品或经过加工的样品。生物样品包括但不限于体液(如血液、血浆、血清、脑脊液、滑液、尿液和汗液)、组织和器官样品，包括由其衍生的加工样品。

[0423] 在一些方面，细胞从其中来源或分离的样品是血液或血液来源的样品，或者是或源自单采术或白细胞单采术产物。示例性样品包括全血、外周血单个核细胞(PBMC)、白细胞、骨髓、胸腺、组织活检、肿瘤、白血病、淋巴瘤、淋巴结、肠相关淋巴组织、粘膜相关淋巴组织、脾、其他淋巴组织、肝、肺、胃、肠、结肠、肾、胰腺、乳房、骨、前列腺、子宫颈、睾丸、卵巢、扁桃体或其他器官和/或由其衍生的细胞。在细胞疗法(例如过继细胞疗法)的背景下，样品包括来自自体和同种异体来源的样品。

[0424] 在一些实施方案中，所述细胞源自细胞系，例如T细胞系。在一些实施方案中，所述细胞获自异种来源，例如获自小鼠、大鼠、非人灵长类动物和猪。

[0425] 在一些实施方案中，细胞的分离包括一个或多个制备步骤和/或非基于亲和力的细胞分离步骤。在一些例子中，将细胞在存在一种或多种试剂的情况下洗涤、离心和/或孵育，例如以去除不需要的组分、针对所需组分进行富集、裂解或去除对特定试剂敏感的细胞。在一些例子中，基于一种或多种特性(如密度、粘附特性、尺寸、对特定组分的敏感性和/或抗性)分离细胞。

[0426] 在一些例子中，例如通过单采术或白细胞单采术获得来自受试者的循环血液的细胞。在一些方面，所述样品含有淋巴细胞(包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞)、其他有核白细胞、红细胞和/或血小板，并且在一些方面含有除红细胞和血小板之外的细胞。在一些实施方案中，在选择和/或富集细胞之前，在进一步处理步骤之前，可以静息或保持样品或样品中的细胞。在一些实施方案中，将样品维持在或保持在为或为约2℃至8℃的温度下长达48小时，例如长达12小时、24小时或36小时。在某些实施方案中，在使细胞与一种或多种核酸接触之前不选择和/或富集细胞。在一些实施方案中，在将细胞与一种或多种核酸接触或一起孵育之前，可以将样品或细胞静置或保持。在某些实施方案中，在将细胞与一种或多种核酸接触或一起孵育之前，将样品维持在或保持在从或从约2℃至8℃的温度下长达48小

时，例如长达12小时、24小时或36小时。

[0427] 在一些实施方案中，洗涤从受试者收集的血细胞以例如去除血浆级分，并将所述细胞置于适当缓冲液或介质中以用于后续的处理步骤。在一些实施方案中，用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤所述细胞。在一些实施方案中，所述洗涤溶液缺乏钙和/或镁和/或许多或所有二价阳离子。在一些方面中，根据制造商的说明书，通过半自动“流通”离心机(例如，Cobe 2991细胞加工器，Baxter)完成洗涤步骤。在一些方面中，根据制造商的说明书，通过切向流过滤(TFF)完成洗涤步骤。在一些实施方案中，洗涤后将细胞重悬于多种生物相容性缓冲液(例如不含$Ca^{++}$/$Mg^{++}$的PBS)中。在某些实施方案中，去除血细胞样品的组分并将所述细胞直接重悬于培养基中。

[0428] 在一些实施方案中，所述方法包括基于密度的细胞分离方法，如通过裂解红细胞并通过Percoll或Ficoll梯度离心而从外周血制备白细胞。

[0429] 在一些实施方案中，分离方法包括基于一种或多种特定分子(如表面标记物(例如，表面蛋白)、细胞内标记物或核酸)在细胞中的表达或存在来分离不同的细胞类型。在一些实施方案中，可以使用任何已知的基于此类标记物的用于分离的方法。在一些实施方案中，所述分离是基于亲和力或基于免疫亲和力的分离。例如，在一些方面，分离包括基于细胞的一种或多种标记物(通常为细胞表面标记物)的表达或表达水平来分离细胞和细胞群，例如通过和与此类标记物结合的抗体或结合配偶体一起孵育，然后通常是洗涤步骤和从那些未与所述抗体或结合配偶体结合的细胞中分离已结合所述抗体或结合配偶体的细胞。

[0430] 此类分离步骤可以基于阳性选择(其中保留已经结合所述试剂的细胞以供进一步使用)和/或阴性选择(其中保留未与所述抗体或结合配偶体结合的细胞)。在一些例子中，保留两种级分以供进一步使用。在一些方面，在没有可用于鉴定异质群体中的细胞类型的抗体的情况下，阴性选择可能特别有用，使得最好基于由除所需群体之外的细胞表达的标记物进行分离。

[0431] 所述分离不需要导致100％富集或去除特定细胞群或表达特定标记物的细胞。例如，针对特定类型的细胞(如表达标记物的那些)的阳性选择或富集是指增加此类细胞的数量或百分比，但不需要导致不表达所述标记物的细胞的完全不存在。同样地，特定类型的细胞(如表达标记物的那些)的阴性选择、去除或耗尽是指减少此类细胞的数量或百分比，但不需要导致所有此类细胞的完全去除。

[0432] 在一些例子中，进行多轮分离步骤，其中来自一个步骤的阳性或阴性选择的级分经受另一个分离步骤，如随后的阳性或阴性选择。在一些例子中，单个分离步骤可以同时耗尽表达多种标记物的细胞，如通过将细胞与多种抗体或结合配偶体(每种抗体或结合配偶体对被靶向用于阴性选择的标记物具特异性)一起孵育。同样地，通过将细胞与在各种细胞类型上表达的多种抗体或结合配偶体一起孵育，可以同时阳性选择多种细胞类型。

[0433] 例如，在一些方面，T细胞的特定亚群(如对一种或多种表面标记物呈阳性或高水平表达的细胞(例如，$CD28^+$、$CD62L^+$、$CCR7^+$、$CD27^+$、$CD127^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、$CD45RA^+$和/或$CD45RO^+$T细胞))通过阳性或阴性选择技术来分离。

[0434] 例如，可以使用CD3/CD28缀合的磁珠(例如，DYNABEADS®M-450CD3/CD28 T细胞扩增器)对$CD3^+$、$CD28^+$T细胞进行阳性选择。在特定实施方案中，在使细胞与一种或多种核酸接触之前，使细胞与抗CD3/抗CD28缀合的磁珠(例如，DYNABEADS®M-450CD3/CD28 T

细胞扩增剂)接触以扩增$CD3^+$、$CD28^+$T细胞。在某些实施方案中,在使细胞与一种或多种核酸接触之前,细胞不与抗CD3/抗CD28缀合的磁珠接触。

[0435] 在一些实施方案中,通过经由阳性选择富集特定细胞群,或经由阴性选择耗尽特定细胞群来进行分离。在一些实施方案中,通过以下方式完成阳性或阴性选择:将细胞与结合至一种或多种表面标记物的一种或多种抗体或其他结合剂一起孵育,所述一种或多种表面标记物分别在阳性或阴性选择的细胞上表达(标记物$^+$)或以相对较高的水平表达(标记物$^{高}$)。

[0436] 在一些实施方案中,通过阴性选择在非T细胞(如B细胞、单核细胞或其他白细胞,如CD14)上表达的标记物,将T细胞与PBMC样品分离。在一些方面,$CD4^+$或$CD8^+$选择步骤用于分离$CD4^+$辅助T细胞和$CD8^+$细胞毒性T细胞。通过对在一种或多种幼稚、记忆和/或效应T细胞亚群上表达或以相对较高程度表达的标记物的阳性或阴性选择,可以将此类$CD4^+$和$CD8^+$群体进一步分类成亚群。

[0437] 在一些实施方案中,如通过基于与相应子群体相关的表面抗原进行阳性或阴性选择,将$CD8^+$细胞针对幼稚、中枢记忆、效应子记忆和/或中枢记忆干细胞进一步富集或耗尽。在一些实施方案中,针对中枢记忆T($T_{CM}$)细胞进行富集以增加功效,如以改善施用后的长期存活、扩增和/或植入,这在一些方面在此类亚群中特别稳健。参见Terakura等人(2012)Blood.1:72-82;Wang等人(2012)J Immunother.35(9):689-701。在一些实施方案中,组合富含$T_{CM}$的$CD8^+$T细胞与$CD4^+$T细胞进一步增强功效。

[0438] 在实施方案中,记忆T细胞存在于$CD8^+$外周血淋巴细胞的$CD62L^+$和$CD62L^-$两个子集中。可以将PBMC针对$CD62L^-CD8^+$和/或$CD62L^+CD8^+$级分进行富集或耗尽,如使用抗CD8和抗CD62L抗体。

[0439] 在一些实施方案中,中枢记忆T($T_{CM}$)细胞的富集是基于CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3和/或CD 127的阳性或高表面表达;在一些方面,它是基于对表达或高度表达CD45RA和/或颗粒酶B的细胞的阴性选择。在一些方面,通过表达CD4、CD14、CD45RA的细胞的耗尽和表达CD62L的细胞的阳性选择或富集来进行富含$T_{CM}$细胞的$CD8^+$群体的分离。在一个方面,中枢记忆T($T_{CM}$)细胞的富集从基于CD4表达所选择的阴性细胞级分开始进行,所述阴性细胞级分基于CD14和CD45RA的表达进行阴性选择且基于CD62L进行阳性选择。在一些方面这种选择是同时进行的,而在其他方面以任何顺序依序进行。在一些方面,用于制备$CD8^+$细胞群或亚群的相同的基于CD4表达的选择步骤也用于生成$CD4^+$细胞群或亚群,使得来自基于CD4的分离的阳性和阴性级分被保留并用于所述方法的后续步骤中,任选地在一个或多个其他阳性或阴性选择步骤之后。

[0440] 在特定例子中,使PBMC样品或其他白细胞样品经历$CD4^+$细胞的选择,其中保留阴性和阳性两种级分。然后使阴性级分经历基于CD14和CD45RA的表达的阴性选择和基于中央记忆T细胞所特有的标记物(如CD62L或CCR7)的阳性选择,其中阳性和阴性选择是以任何顺序进行的。

[0441] 通过鉴定具有细胞表面抗原的细胞群,将$CD4^+$T辅助细胞分类为幼稚、中枢记忆和效应细胞。$CD4^+$淋巴细胞可以通过标准方法获得。在一些实施方案中,幼稚$CD4^+$T淋巴细胞是$CD45RO^-$、$CD45RA^+$、$CD62L^-$、$CD4^+$T细胞。在一些实施方案中,中枢记忆$CD4^+$细胞是$CD62L^+$且$CD45RO^+$。在一些实施方案中,效应$CD4^+$细胞是$CD62L^-$且$CD45RO^-$。

[0442] 在一个例子中，为了通过阴性选择富集$CD4^+$细胞，单克隆抗体混合剂通常包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。在一些实施方案中，所述抗体或结合配偶体与固体支持物或基质(如磁珠或顺磁珠)结合，以允许细胞分离以用于阳性和/或阴性选择。例如，在一些实施方案中，使用免疫磁性(或亲和磁性)分离技术来分开或分离细胞和细胞群(综述于以下文献中:Methods in Molecular Medicine,第58卷:Metastasis Research Protocols,第2卷:Cell Behavior In Vitro and In Vivo,第17-25页S.A.Brooks和U.Schumacher编辑©Humana Press Inc.,Totowa,NJ)。

[0443] 在一些方面，将待分离的细胞的样品或组合物与小的可磁化或磁响应材料(如磁响应颗粒或微粒，如顺磁珠(例如像Dynabeads或MACS珠))一起孵育。磁响应材料(例如，颗粒)通常直接或间接地附接至结合配偶体(例如，抗体)，所述结合配偶体结合至需要分离(例如，需要进行阴性或阳性选择)的一种细胞、多种细胞或细胞群上存在的分子(例如，表面标记物)。

[0444] 在一些实施方案中，所述磁性颗粒或珠包含与特异性结合成员(如抗体或其他结合配偶体)结合的磁响应材料。有许多在磁分离方法中使用的熟知的磁响应材料。合适的磁性颗粒包括在Molday,美国专利号4,452,773和欧洲专利说明书EP 452342B中所述的那些，将所述专利通过引用特此并入。胶体大小的颗粒(例如在Owen美国专利号4,795,698;和Liberti等人的美国专利号5,200,084中所述的那些)是其他的例子。

[0445] 孵育通常在这样的条件下进行，由此抗体或结合配偶体或者与附接至磁性颗粒或珠的此类抗体或结合配偶体结合的分子(如二抗或其他试剂)与细胞表面分子(如果存在于所述样品内的细胞上的话)结合。

[0446] 在一些方面，将样品置于磁场中，并且具有附接其上的磁响应或可磁化颗粒的那些细胞将被吸引到磁体并与未标记的细胞分离。对于阳性选择，保留被磁体吸引的细胞;对于阴性选择，保留未被吸引的细胞(未标记的细胞)。在一些方面，在同一选择步骤期间进行阳性和阴性选择的组合，其中保留阳性和阴性级分并进一步处理或经受另外的分离步骤。

[0447] 在某些实施方案中，磁响应颗粒被包被在一抗或其他结合伴侣、二抗、凝集素、酶或链霉亲和素中。在某些实施方案中，所述磁性颗粒通过对一种或多种标记物具特异性的一抗的包被而附接至细胞。在某些实施方案中，用一抗或结合配偶体标记细胞而不是珠，然后添加细胞类型特异性二抗或其他结合配偶体(例如，链霉亲和素)包被的磁粒。在某些实施方案中，将链霉亲和素包被的磁性颗粒与生物素化的一抗或二抗结合使用。

[0448] 在一些实施方案中，磁响应颗粒保持附接至所述细胞，所述细胞随后被孵育，培养和/或工程化;在一些方面，所述颗粒保持附接至所述细胞以用于施用患者。在一些实施方案中，从所述细胞中去除可磁化或磁响应颗粒。从细胞中去除可磁化颗粒的方法是已知的，并且包括例如使用竞争性非标记抗体和与可切割接头缀合的可磁化颗粒或抗体。在一些实施方案中，可磁化颗粒是可生物降解的。

[0449] 在一些实施方案中，基于亲和力的选择是经由磁激活细胞分选(MACS)(Miltenyi Biotec,加利福尼亚州奥本)进行的。磁激活细胞分选(MACS)系统能够高纯度选择其上附接有磁化颗粒的细胞。在某些实施方案中，MACS以这样的模式操作，其中在施加外部磁场之后依序洗脱非靶标和靶标种类。也就是说，附接至磁化颗粒的细胞保持在适当的位置，而未附接的种类被洗脱。然后，在完成第一次洗脱步骤之后，以某种方式释放被捕获在磁场中并被

阻止洗脱的种类，使得它们可以被洗脱和回收。在某些实施方案中，所述非靶细胞被标记并从异质细胞群中耗尽。

[0450] 在某些实施方案中，使用如下系统、装置或设备进行分离或分开，所述系统、装置或设备进行所述方法的分离、细胞制备、分开、处理、孵育、培养和/或制备步骤中的一个或多个。在一些方面，所述系统用于在封闭或无菌环境中进行这些步骤中的每一个，例如以使错误、用户操作和/或污染降至最低。在一个例子中，所述系统是如国际专利申请公开号WO 2009/072003或US 20110003380 A1中所述的系统。在一个例子中，所述系统是如国际公开号WO 2016/073602中所述的系统。

[0451] 在一些实施方案中，所述系统或设备在集成或独立系统中和/或以自动化或可编程方式进行分离、处理、工程化和配制步骤中的一个或多个(例如，全部)。在一些方面，所述系统或设备包括与所述系统或设备通信的计算机和/或计算机程序，其允许用户对处理、分离、工程化和配制步骤的各个方面进行编程、控制、结局评估和/或调整。

[0452] 在一些方面，使用CliniMACS系统(Miltenyi Biotec)进行分离和/或其他步骤，例如以用于在封闭和无菌系统中在临床规模水平上自动分离细胞。部件可以包括集成微计算机、磁分离单元、蠕动泵和各种夹管阀。在一些方面，集成计算机控制所述仪器的所有部件并指示所述系统按标准化顺序进行重复程序。在一些方面，磁分离单元包括可移动的永磁体和用于选择柱的支架。蠕动泵控制整个管组的流速，并与夹管阀一起确保缓冲液通过所述系统的受控流动和细胞的连续悬浮。

[0453] 在一些方面，CliniMACS系统使用在无菌无热原溶液中供应的、抗体偶联的可磁化颗粒。在一些实施方案中，在用磁性颗粒标记细胞后，洗涤细胞以去除过量的颗粒。然后将细胞制备袋连接到管组，再将所述管组连接到含有缓冲液的袋和细胞收集袋。所述管组由预装配的无菌管(包括预柱和分离柱)组成，并且仅供一次性使用。在启动分离程序后，系统将细胞样品自动上样到分离柱上。标记的细胞保留在柱内，而未标记的细胞通过一系列洗涤步骤去除。在一些实施方案中，用于与本文所述的方法一起使用的细胞群是未标记的并且不保留在柱中。在一些实施方案中，用于与本文所述的方法一起使用的细胞群被标记并保留在柱中。在一些实施方案中，用于与本文所述方法一起使用的细胞群在去除磁场后从柱中洗脱，并被收集在细胞收集袋内。

[0454] 在某些实施方案中，使用CliniMACS Prodigy系统(Miltenyi Biotec)进行分离和/或其他步骤。在一些方面中，该CliniMACS Prodigy系统配备有细胞处理单元，其允许自动洗涤和通过离心来分级分离细胞。CliniMACS Prodigy系统还可以包括机载相机和图像识别软件，其通过辨别源细胞产物的宏观层来确定最佳的细胞分级分离终点。例如，外周血自动分离成红细胞、白细胞和血浆层。CliniMACS Prodigy系统还可以包括集成细胞培育室，其实现细胞培养方案，例如像细胞分化和扩增、抗原负载和长期细胞培养。输入端口可允许无菌移除和补充培养基，并且可以使用集成显微镜监测细胞。参见例如Klebanoff等人(2012)J Immunother.35(9):651-660;Terakura等人(2012)Blood.1:72-82;以及Wang等人(2012)J Immunother.35(9):689-701。

[0455] 在一些实施方案中，经由流式细胞术收集并富集(或耗尽)本文所述的细胞群，其中流体流中携载针对多种细胞表面标记物染色的细胞。在一些实施方案中，经由制备规模(FACS)分选来收集和富集(或耗尽)本文所述的细胞群。在某些实施方案中，通过使用微机

电系统(MEMS)芯片结合基于FACS的检测系统来收集和富集(或耗尽)本文所述的细胞群(参见例如,WO 2010/033140;Cho等人(2010)Lab Chip 10,1567-1573;以及Godin等人(2008)J Biophoton.1(5):355-376)。在两种情况下,可以用多种标记物来标记细胞,从而允许以高纯度分离明确定义的T细胞子集。

[0456] 在一些实施方案中,用一种或多种可检测的标记物来标记抗体或结合配偶体,以促进用于阳性和/或阴性选择的分离。例如,分离可以基于与荧光标记的抗体的结合。在一些例子中,基于对一种或多种细胞表面标记物具特异性的抗体或其他结合配偶体的结合来分离细胞携载于流体流中,如通过荧光激活细胞分选(FACS)(包括制备规模FACS)和/或微机电系统(MEMS)芯片,例如与流式细胞检测系统组合。此类方法允许同时基于多种标记物进行阳性和阴性选择。

[0457] 在一些实施方案中,制备方法包括在分离、孵育和/或工程化之前或之后冷冻(例如,冷冻保存)细胞的步骤。在一些实施方案中,所述冷冻和后续解冻步骤去除所述细胞群中的粒细胞,并且在一定程度上去除单核细胞。在一些实施方案中,例如在洗涤步骤之后将所述细胞悬浮在冷冻溶液中以去除血浆和血小板。在一些方面,可以使用多种已知的冷冻溶液和参数中的任何一种。一个例子包括使用含有20%DMSO和8%人血清白蛋白(HSA)的PBS,或其他合适的细胞冷冻培养基。然后用培养基将其1:1稀释,使得DMSO和HSA的最终浓度分别为10%和4%。然后通常将细胞以1°/分钟的速率冷冻至-80℃并储存在液氮储罐的气相中。

[0458] 在一些实施方案中,在基因工程化之前或结合基因工程化来孵育和/或培养细胞。孵育步骤可以包括培养、培育、刺激、激活和/或繁殖。孵育和/或工程化可以在培养容器中进行,所述培养容器是如单元、室、孔、柱、管、管组、阀、小瓶、培养皿、袋或其他用于培养或培育细胞的容器。在一些实施方案中,在刺激条件或刺激剂的存在下孵育所述组合物或细胞。此类条件包括设计为诱导群体中细胞的增殖、扩增、激活和/或存活,模拟抗原暴露和/或引发细胞用于基因工程化(如用于引入重组抗原受体)的那些。

[0459] 所述条件可以包括以下中的一种或多种:特定培养基、温度、氧含量、二氧化碳含量、时间、药剂(例如,营养素、氨基酸、抗生素、离子和/或刺激因子(如细胞因子、趋化因子、抗原、结合配偶体、融合蛋白、重组可溶性受体和旨在激活细胞的任何其他药剂))。

[0460] 在一些实施方案中,刺激条件或药剂包括一种或多种药剂(例如配体),其能够激活TCR复合物的细胞内信号传导结构域。在一些方面,所述药剂在T细胞中开启或启动TCR/CD3细胞内信号传导级联。此类药剂可包括抗体如对于TCR具有特异性的那些,例如抗CD3。在一些实施方案中,刺激条件包括一种或多种药剂例如配体,其能够刺激共刺激受体,例如抗CD28。在一些实施方案中,此类药剂和/或配体可以与固体支持物(如珠)和/或一种或多种细胞因子结合。任选地,扩增方法还可以包括向培养基中(例如,以至少约0.5ng/ml的浓度)添加抗CD3和/或抗CD28抗体的步骤。在一些实施方案中,刺激剂包括IL-2、IL-15和/或IL-7。在一些方面,IL-2浓度为至少约10单位/mL。

[0461] 在一些方面,孵育是根据多种技术来进行,例如以下文献中所述的那些技术:Riddell等人的美国专利号6,040,1 77;Klebanoff等人(2012)J Immunother.35(9):651-660;Terakura等人(2012)Blood.1:72-82,和/或Wang等人(2012)J Immunother.35(9):689-701。

[0462] 在一些实施方案中，通过以下方式扩增T细胞：向培养起始组合物中添加饲养细胞(如非分裂外周血单个核细胞(PBMC))(例如，使得对于要扩增的初始群体中的每个T淋巴细胞，所得细胞群含有至少约5、10、20或40个或更多个PBMC饲养细胞)；以及孵育培养物(例如，持续足以扩增T细胞数量的时间)。在一些方面，非分裂饲养细胞可以包含γ辐射的PBMC饲养细胞。在一些实施方案中，用约3000至3600拉德范围内的γ射线辐射PBMC以防止细胞分裂。在一些方面，在添加T细胞群之前将饲养细胞加入到培养基中。

[0463] 在一些实施方案中，刺激条件包括适合于人T淋巴细胞生长的温度，例如至少约25摄氏度，通常为至少约30摄氏度，并且通常在或在约37摄氏度。任选地，孵育还可以包括加入非分裂的EBV转化的类淋巴母细胞(LCL)作为饲养细胞。可以用约6000至10,000拉德范围内的γ射线照射LCL。在一些方面，所述LCL饲养细胞以任何合适的量(如LCL饲养细胞与初始T淋巴细胞的比率为至少约10:1)提供。

III.组合物

[0464] 还提供了包含如本文所提供的结合分子(如抗独特型抗体或其抗原结合片段)的组合物，包括药物组合物和配制品。还提供了包含如本文所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的组合物，包括药物组合物和配制品。所述药物组合物和配制品通常包含一种或多种任选的药学上可接受的载体或赋形剂。

[0465] 术语“药物配制品”是指如下制剂，其呈使得其中所含活性成分的生物活性有效的形式，并且不含对施用配制品的受试者具有不可接受的毒性的另外的组分。

[0466] “药学上可接受的载体”是指药物配制品中除了活性成分之外对受试者无毒的成分。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲液、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

[0467] 在一些方面中，载体的选择部分地由特定细胞、结合分子和/或抗体和/或由施用方法决定。因此，存在多种合适的配制品。例如，药物组合物可以含有防腐剂。合适的防腐剂可以包括例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠和苯扎氯铵。在一些方面，使用两种或更多种防腐剂的混合物。防腐剂或其混合物通常以按总组合物的重量计约0.0001％至约2％的量存在。载体描述于例如Remington's Pharmaceutical Sciences第16版，Osol，A.编辑(1980).药学上可接受的载体在所用剂量和浓度下通常对接受者无毒，并且包括但不限于：缓冲液，如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸和甲硫氨酸；防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵；六甲氯铵；苯扎氯铵；苄索氯铵；苯酚、丁醇或苄醇；烷基对羟基苯甲酸酯，如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯；儿茶酚；间苯二酚；环己醇；3-戊醇；和间甲酚)；低分子量(少于约10个残基)多肽；蛋白质，如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂，如EDTA；糖类，如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成盐抗衡离子，如钠；金属络合物(例如锌-蛋白质络合物)；和/或非离子表面活性剂，如聚乙二醇(PEG)。

[0468] 在一些方面，在所述组合物中包括缓冲剂。合适的缓冲剂包括例如柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸、磷酸钾和各种其他酸和盐。在一些方面，使用两种或更多种缓冲剂的混合物。所述缓冲剂或其混合物通常以按总组合物的重量计约0.001％至约4％的量存在。用于制备可施用的药物组合物的方法是已知的。示例性方法更详细地描述于例如Remington:The Science and Practice of Pharmacy,Lippincott Williams&Wilkins;第21版(2005年5月

1日)中。

[0469] 在一些方面,所述组合物可以含有防腐剂。合适的防腐剂可以包括例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠和苯扎氯铵。在一些方面,使用两种或更多种防腐剂的混合物。防腐剂或其混合物通常以按总组合物的重量计约0.0001%至约2%的量存在。载体描述于例如Remington's Pharmaceutical Sciences第16版,Osol,A.编辑(1980).可接受的载体包括但不限于:缓冲液,如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸和甲硫氨酸;防腐剂(如十八烷基二甲基苄基氯化铵;六甲氯铵;苯扎氯铵;苄索氯铵;苯酚、丁醇或苄醇;烷基对羟基苯甲酸酯,如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯;儿茶酚;间苯二酚;环己醇;3-戊醇;和间甲酚);低分子量(少于约10个残基)多肽;蛋白质,如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,如EDTA;糖类,如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇;成盐抗衡离子,如钠;金属络合物(例如锌-蛋白质络合物);和/或非离子表面活性剂,如聚乙二醇(PEG)。

[0470] 该抗体的制剂可以包括冻干制剂和水溶液。

[0471] 在一些实施方案中,组合物作为无菌液体制剂提供,例如等渗水溶液、悬浮液、乳液、分散体或粘性组合物,其在一些方面可以缓冲至选择的pH。液体制剂一般比凝胶、其他粘性组合物和固体组合物制备起来更容易。另外,液体组合物稍微更方便施用,特别是通过注射。另一方面,粘性组合物可以在适当的粘度范围内配制,以提供与特定组织的更长的接触时间。液体或粘性组合物可以包含载体,所述载体可以是溶剂或分散介质,所述溶剂或分散介质含有例如水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、多元醇(例如,甘油、丙二醇、液体聚乙二醇)及其合适的混合物。

[0472] 无菌可注射溶液可以通过将结合分子掺入溶剂中来制备,如与合适的载体、稀释剂或赋形剂(如无菌水、生理盐水、葡萄糖、右旋糖等)掺合。组合物也可以是冻干的。所述组合物可以含有辅助物质,如润湿剂、分散剂或乳化剂(例如,甲基纤维素)、pH缓冲剂、胶凝或粘度增强添加剂、防腐剂、调味剂、颜料等,这取决于施用途径和所需的制剂。在一些方面,可以参考标准文本来制备合适的制剂。

[0473] 可以添加各种增强所述组合物的稳定性和无菌性的添加剂,包括抗微生物防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和缓冲液。防止微生物的作用可以通过不同的抗细菌和抗真菌剂(例如,对羟基苯甲酸酯、三氯叔丁醇、苯酚、抗坏血酸等)来确保。通过使用延迟吸收的药剂(例如单硬脂酸铝和明胶)可以实现可注射药物形式的延长吸收。

[0474] 组合物也可以是冻干的。组合物可以含有辅助物质,例如润湿剂、分散剂或乳化剂(例如甲基纤维素)、pH缓冲剂、胶凝或粘度增强添加剂、防腐剂、颜料等。在一些方面,可以参考标准文本来制备合适的制剂。

[0475] 用于体内施用的配制品通常是无菌的。可以例如通过经无菌滤膜过滤容易地实现无菌性。

IV.方法和用途

[0476] 在一些实施方案中,本文提供了涉及使用一种或多种抗独特型抗体的方法。在一些方面,本文提供了用于测量或检测靶抗体(如CAR)或表达CAR的细胞的方法,以及用于修饰靶抗体的活性(如CAR的活性)或表达CAR的细胞的活性的方法。在一些方面,本文提供了

用于测量或检测靶抗体(如CAR)或表达CAR的细胞的方法。在某些实施方案中,所述一种或多种抗独特型抗体结合、检测、鉴定、纯化、选择和/或定量所述CAR和/或表达所述CAR的细胞。在一些方面,本文还提供了用于修饰靶抗体的活性(如CAR的活性)或表达CAR的细胞的活性的方法。在一些实施方案中,本文提供的方法提供了使所述一种或多种抗独特型抗体与含有或被认为含有表达嵌合抗原受体(CAR)的细胞或样品接触和/或孵育的一个或多个步骤。在一些实施方案中,将所述抗独特型抗体在允许在所述抗独特型抗体与所述靶抗体(例如,CAR)之间形成复合物的条件下用所述组合物或样品处理、与所述组合物或样品一起孵育和/或与所述组合物或样品接触。在一些方面,所述复合物可以用于检测、分离和/或测量CAR的目的。在一些实施方案中,复合物的形成修饰靶抗体(例如,CAR)的活性,如通过刺激受体信号传导活性,或者在一些实施方案中,通过阻止CAR与抗原的缔合来拮抗靶抗体(例如,CAR)的活性。在一些实施方案中,CAR是表达靶抗体1或靶抗体2或其抗原结合片段的CAR,或者是如例如WO 2019/090003或WO 2016/090320中所述的CAR,将其内容通过引用并入于此。

A.检测/分离方法

[0477] 在一些实施方案中,提供了涉及使用一种或多种抗独特型抗体和/或含有一种或多种此类抗独特型抗体的分子(如缀合物和复合物)检测、结合、选择和/或分离抗体(例如,靶抗体)的方法。在某些实施方案中,所述方法提供使所述一种或多种抗独特型抗体与样品和/或组合物接触、与样品和/或组合物一起孵育和/或将所述一种或多种抗独特型抗体暴露于样品和/或组合物的一个或多个步骤。

[0478] 在一些实施方案中,所述方法包括(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段(例如,靶抗体1或靶抗体2或其抗原结合片段)的组合物与结合或识别靶抗体或其抗原结合片段的本文提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段或本文提供的抗独特型抗体免疫缀合物接触,和(b)检测与靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段。

[0479] 在一些实施方案中,所述方法包括(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段(例如,靶抗体1或靶抗体2或其抗原结合片段)的CAR的细胞与结合或识别靶抗体或其抗原结合片段的本文提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段或本文提供的抗独特型抗体免疫缀合物接触,和(b)检测与靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段。

[0480] 在一些实施方案中,所述方法包括(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段(例如,靶抗体1或靶抗体2或其抗原结合片段)的CAR的细胞群体或与靶抗体或其抗原结合片段(例如,靶抗体1或靶抗体2或其抗原结合片段)结合的细胞与结合或识别靶抗体或其抗原结合片段的本文提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段或本文提供的抗独特型抗体免疫缀合物接触,和(b)选择与抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

[0481] 在一些实施方案中,所述样品和/或组合物具有、可能具有和/或被怀疑具有由所述一种或多种抗独特型抗体结合和/或识别的靶抗体和/或其抗原结合片段。在某些实施方案中,由所述一种或多种抗独特型抗体结合或识别的抗体或其抗原结合片段含有一个或多个融合结构域和/或是融合蛋白。在某些实施方案中,所述靶抗体和/或其抗原结合片段是CAR。在某些实施方案中,所述抗独特型抗体结合和/或识别抗BCMA抗体(例如,靶抗体1、靶抗体2)或其抗原结合片段,包括含有这种抗BCMA抗体(例如,抗体片段)的嵌合分子或缀合物,包括CAR。在某些实施方案中,所述抗独特型抗体结合和/或识别多于一种抗BCMA抗体

(例如,靶抗体1和靶抗体2)或其抗原结合片段,包括含有这种抗BCMA抗体(例如,抗体片段)的嵌合分子或缀合物,包括CAR。

[0482] 在一些实施方案中,抗BCMA靶抗体或抗原结合片段与细胞结合或在细胞表面上表达。在一些实施方案中,抗BCMA靶抗体或抗原结合片段被包含在嵌合抗原受体(CAR)(如在细胞表面上表达的CAR)中。在一些实施方案中,所述细胞是干细胞(例如iPSC)或免疫细胞。在一些实施方案中,所述免疫细胞是T细胞。所述T细胞可以包括CD4+T细胞或CD8+T细胞或其任何子集。例如,所述T细胞可以是幼稚T($T_N$)细胞、效应T细胞($T_{EFF}$)、记忆T细胞、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)、未成熟T细胞、成熟T细胞、辅助性T细胞、细胞毒性T细胞、粘膜相关不变T(MAIT)细胞、天然存在和适应性调节性T(Treg)细胞、辅助性T细胞(如TH1细胞、TH2细胞、TH3细胞、TH17细胞、TH9细胞、TH22细胞、滤泡辅助性T细胞、α/βT细胞、和/或δ/γT细胞)。在一些实施方案中,所述细胞来自组织,例如心脏、血管、唾液腺、食管、胃、肝、胆囊、胰腺、肠、结肠、直肠、下丘脑、垂体、松果腺、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、肾、输尿管、膀胱、尿道、淋巴系统、皮肤、肌肉、脑、脊髓、神经、卵巢、子宫、睾丸、前列腺、咽、喉、气管、支气管、肺、膈膜、骨、软骨、韧带或肌腱。

[0483] 在一些实施方案中,所述细胞是T细胞,所述T细胞分离自或选自来自受试者(例如人受试者)的样品,并且被工程化为表达在其胞外抗原结合结构域中含有抗BCMA靶抗体的靶CAR。例如,在一些实施方案中,CAR表达T细胞的组合物可以通过如下过程产生,所述过程包括从来自受试者(例如人受试者)的单采术或白细胞单采术样品分离或选择T细胞(例如CD3+或CD4+和/或CD8+T细胞)、激活所分离或所选择的T细胞(例如用抗CD3/抗CD28试剂,如抗CD3/抗CD28珠(例如Dynabeads)),然后用编码在其胞外抗原结合结构域中含有抗BCMA靶抗体的靶抗BCMA CAR的载体转导激活的细胞。在一些情况下,可以在存在一种或多种刺激试剂(例如重组IL-2、IL-7和/或IL-15)的情况下在CAR表达T细胞增殖或扩增的条件下进一步孵育或培养转导的T细胞。在一些实施方案中,所提供的方法可以包括使含有靶抗BCMA CAR表达T细胞的组合物与所提供的抗独特型抗体或抗原结合片段接触,以及检测或选择与所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合的T细胞。在一些实施方案中,所提供的方法可以用于将T细胞的组合物中靶抗BCMA CAR表达T细胞的数量定量或测定为与组合物中的总细胞或总T细胞相比的百分比或数量。

[0484] 在特定实施方案中,靶抗体(例如,CAR)不结合或不包含在细胞内,例如,在一些实施方案中,所述靶抗体是分泌的。在某些实施方案中,所述抗体已从细胞表面分离、去除和/或裂解。

[0485] 在一些实施方案中,所述方法包括将含有或被怀疑含有靶抗体的样品和/或组合物与所述抗独特型抗体一起孵育、用所述抗独特型抗体处理和/或与所述抗独特型抗体接触。在某些实施方案中,所述孵育是在允许所述抗独特型抗体与所述组合物中存在的靶抗体结合的条件下进行的,例如以形成含有所述抗独特型抗体和所述靶抗体的复合物。

[0486] 在一些实施方案中,所述方法包括将含有或被怀疑含有所述靶抗BCMA抗体或包含所述靶抗体的靶抗BCMA CAR的样品和/或组合物与所述抗独特型抗体一起孵育、用所述抗独特型抗体处理和/或与所述抗独特型抗体接触。例如,所述样品或组合物可以包括已知或被怀疑含有表达靶抗BCMA CAR的细胞的细胞(如T细胞)的组合物。在某些实施方案中,所述孵育是在允许所述抗独特型抗体与所述组合物中存在的靶抗BCMA抗体结合的条件下进行

的,例如以形成含有所述抗独特型抗体和所述靶抗BCMA抗体的复合物。

[0487] 在一些实施方案中,所述样品和/或组合物含有或被怀疑含有靶抗体,例如,CAR。在某些实施方案中,所述样品和/或组合物含有或被怀疑含有表达靶抗体(例如,CAR)的细胞。在特定实施方案中,所述细胞是表达CAR的T细胞,所述CAR具有含有靶抗BCMA抗体的胞外抗原结合结构域。在一些实施方案中,所述T细胞是CD3+T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是CD8+T细胞。在一些实施方案中,所述T细胞是CD4+T细胞。在一些实施方案中,所述组合物含有表达靶抗BCMA CAR的T细胞,其包括CD4+和CD8+T细胞。在一些实施方案中,所述样品或组合物是用靶抗BCMA CAR离体产生或工程化的T细胞(例如从来自受试者的生物样品(例如单采术或白细胞单采术样品)分离的T细胞)的样品。在一些实施方案中,所述样品或组合物是已知或被怀疑含有靶抗BCMA CAR表达T细胞的样品,其是直接从来自受试者(例如先前已被施用一定剂量的含有靶抗BCMA CAR表达T细胞的治疗组合物的受试者)的样品获得的。在某些实施方案中,所述样品是生物样品。在特定实施方案中,所述样品是血清样品或血液样品。在一些实施方案中,所述生物样品含有一种或多种免疫细胞。在一些实施方案中,所述生物样品是或源自组织,如结缔组织、肌肉组织、神经组织或上皮组织。在特定实施方案中,所述生物样品是或源自心脏、血管、唾液腺、食管、胃、肝、胆囊、胰腺、肠、结肠、直肠、下丘脑、垂体、松果腺、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、肾、输尿管、膀胱、尿道、淋巴系统、皮肤、肌肉、脑、脊髓、神经、卵巢、子宫、睾丸、前列腺、咽、喉、气管、支气管、肺、膈膜、骨、软骨、韧带或肌腱。在特定实施方案中,所述生物样品是从人受试者采集、收集和/或获得的。在某些实施方案中,所述样品含有活的和/或完整的细胞。在一些实施方案中,所述样品是或含有已被破坏和/或裂解的匀浆和/或细胞。在一些实施方案中,所述生物样品含有已从血液、血清和/或组织分离的蛋白质和/或抗体。

[0488] 在特定实施方案中,所述抗独特型抗体与靶抗体(例如,CAR)形成或能够形成复合物。在特定实施方案中,所述抗独特型抗体与靶抗体(例如,CAR中含有的)形成或能够形成复合物。在特定实施方案中,例如,检测、测量、定量和/或评估所述复合物,以允许例如在组合物或样品中检测、鉴定、测量和/或定量所述靶抗体。在某些实施方案中,所述方法包括检测样品中的抗独特型抗体与靶抗体之间是否形成复合物,和/或检测这种结合的存在或不存在或水平。在一些实施方案中,所述复合物含有可检测标记。在特定实施方案中,所述抗独特型抗体是含有可检测标记的免疫缀合物。在某些实施方案中,所述抗独特型抗体含有可检测标记、与可检测标记缀合、与可检测标记结合和/或附接至可检测标记。在一些实施方案中,所述复合物含有结合和/或识别抗独特型抗体的抗体(例如,二抗),其与可检测标记缀合、结合和/或附接至可检测标记。

[0489] 在一些实施方案中,用于例如在样品或组合物中检测、定量、检测和/或评估靶抗体的方法包括检测靶抗体与抗独特型抗体的复合物。在一些实施方案中,所述复合物含有可检测标记。在一些实施方案中,本文提供的抗体可以直接或间接与能够检测的部分缀合。在一些例子中,一种或多种抗体被修饰为允许检测结合。例如,抗体可以与可检测分子缀合,所述可检测分子允许直接检测或经由二级药剂检测。在一些实施方案中,所述标记是可检测标记(例如,荧光染料标记)。在一些实施方案中,所述标记是亲和标记(例如,生物素标记)。用于将标记直接或间接地附接至抗体的方法是本领域熟知的。标记和标记试剂盒是可商购的,如从加利福尼亚州卡尔斯巴德的Invitrogen Corp购得。在一些实施方案中,所述

标记对于用于检测测定是相容的。在一些实施方案中，所述标记对于用于诊断测定是相容的。本文设想的标记包括但不限于荧光染料、荧光蛋白、放射性同位素、发色团、金属离子、金颗粒(例如，胶体金颗粒)、银颗粒、具有强烈光散射特性的颗粒、磁性颗粒(例如，磁珠颗粒，如Dynabeads®磁珠)、多肽(如FLAG™标签、人流感血凝素(HA)标签等)、酶如过氧化物酶(例如，辣根过氧化物酶)或磷酸酶(例如，碱性磷酸酶)、链霉亲和素、生物素、发光化合物(例如，化学发光底物)、寡核苷酸、特异性结合对的成员(例如，配体及其受体)以及当直接或间接附接至抗体时用于可视化或检测所述抗体的本领域熟知的其他标记。在一些实施方案中，所述标记是辣根过氧化物酶，其可通过添加适当的底物来检测，所述底物在存在辣根过氧化物酶的情况下产生颜色变化。在一些实施方案中，所述标记是胶体金颗粒，其可以通过检测由于金颗粒的聚集而导致的溶液中的颜色变化来检测。用于检测金颗粒标记的抗体的其他方法是本领域熟知的(参见Dykman等人(2011)Acta Naturae.3(2):34-55)。在一些例子中，可以使用二级试剂检测抗体，如通过与本文提供的一抗结合并且与可检测的蛋白质(如荧光探针或可检测的酶，如辣根过氧化物酶)偶联的二抗试剂检测抗体。

[0490] 在某些实施方案中，将所述复合物用可检测标记探测和/或使其与可检测标记接触。在一些实施方案中，通过任何合适的方法或手段检测所述复合物，所述方法或手段如但不限于流式细胞术、免疫细胞化学、免疫组织化学、蛋白质印迹分析和ELISA。在一些实施方案中，通过基于亲和力的分离，例如基于免疫亲和力的分离来选择与抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。在一些实施方案中，所述基于亲和力的分离是通过流式细胞术进行的。在一些实施方案中，所述基于亲和力的分离是通过磁激活细胞分选进行的。在一些实施方案中，所述基于亲和力的分离是通过亲和色谱法进行的。在一些实施方案中，所述基于亲和力的分离是通过亲和色谱法进行的，并且所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆地结合或固定至支持物或固定相。

[0491] 在一些实施方案中，所述样品或组合物与抗独特型抗体或抗原结合片段在存在固体支持物或包含固体支持物的装置的情况下混合或者与固体支持物或包含固体支持物的装置上或固体支持物或包含固体支持物的装置中的抗独特型抗体或抗原结合片段混合。在一些实施方案中，将所述样品或组合物与所述一种或多种抗独特型抗体或抗原结合片段混合以产生混合物，并且随后将所述混合物施加至固体支持物或包含固体支持物的装置。在本文的一些实施方案中，所述抗独特型抗体或抗原结合片段直接或间接附接至所述固体支持物。在一些实施方案中，所述接触包括将所述样品或组合物与所述抗独特型抗体或抗原结合片段一起孵育。所述一种或多种孵育可以持续适于允许所述样品接触所述一种或多种抗体的时间，如在使样品与如本文所述的一种或多种抗体接触之后持续至少或至少约30秒、1分钟、5分钟、10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、3小时、6小时或12小时或更长时间但不超过约24小时。在一些实施方案中，所述接触在约0℃至约50℃的温度下进行，如通常2℃至8℃或23℃至28℃或37℃至42℃。在一些实施方案中，方法可以包括在将结合的抗独特型抗体或抗原结合片段保留在所述固体支持物上和/或将所述复合物与不是所述复合物的一部分的样品部分分离的条件下接触或孵育之后的一个或多个洗涤步骤。

[0492] 在一些实施方案中，所述接触在形成复合物的条件下进行，所述复合物包含与抗BCMA靶抗体(例如，所述组合物中的细胞所表达的CAR中含有的)结合的抗体或抗原结合片段。在一些实施方案中，结合的检测可以通过本领域通常已知的用于检测蛋白质靶标与结

合剂(例如抗体)之间的结合的检测技术来实现,所述检测技术如但不限于分光光度法、高效液相色谱法(HPLC)、免疫测定(如酶联免疫吸附测定(ELISA))、蛋白质印迹、自动化成像、免疫组织化学、流式细胞术、阵列的高通量筛选(如微阵列或纳米阵列)和表面等离子体共振。在一些实施方案中,本文提供的抗体可以使用本领域技术人员已知的任何结合测定或免疫测定来检测抗BCMA靶抗体(例如由所述组合物中的细胞表达的CAR中含有的),所述结合测定或免疫测定包括但不限于酶联免疫吸附测定(ELISA)或其他类似的免疫测定,包括夹心ELISA或竞争性ELISA;免疫组织化学(IHC);流式细胞术或蛋白质印迹。

[0493] 在一些实施方案中,用于检测、定量和/或评估靶抗体(例如样品或组合物中)的所提供的方法是使用基于盒的流动方法进行的(参见例如,WO 2011/128893、WO2014/097286、WO 2014/097287、US 2014/0170678、US 2015/0330971、其内容通过引用以其整体并入)。在一些实施方案中,使用微流体装置(例如包括微流体盒和盒处理单元的装置)进行基于盒的流动方法。在某些方面,使用基于盒的流动方法消除了对盒处理单元的特殊清洁、维护或在其中使用鞘液的需要。在一些实施方案中,此类方法可以用作制造、分析和/或质量控制方法的一部分,例如与表达重组多肽(例如,CAR)的细胞疗法的产生相结合,所述重组多肽含有由本文提供的抗独特型抗体识别的抗体或其片段。在一些实施方案中,此类方法可以用于测试目的,包括检测、测定和/或确认工程化受体的表达(例如,在被工程化为在个体中用于疗法中的细胞中表达)。在一些实施方案中,此类方法用于确定要施用至个体的CAR-T细胞的剂量。在某些实施方案中,所述细胞组合物可以在产生CAR表达T细胞的过程中的任何阶段进行测试。在特定实施方案中,可以在所述过程的任何阶段从细胞组合物收集细胞样品,并例如通过低温冷冻和/或低温保存进行储存以用于随后的测试和/或分析。测试的组合物可以是药物组合物,例如,包括含有细胞和药学上可接受的受体和/或低温保存剂的那些。

[0494] 在一些实施方案中,基于盒的流动方法是自动化方法(例如,需要最小的操作者输入的方法)。在某些方面,所述自动化方法降低了与操作员和/或昂贵设备相关的成本。在某些方面,与使用传统测定(例如,流式细胞术测定)的方法相比,自动化方法更容易执行且更快。在某些方面,自动化方法减少了样品的处理时间,例如每个样品减少至约30至40分钟。在一些实施方案中,所述自动化方法比使用传统测定进行的方法更加一致和稳健。

[0495] 在一些实施方案中,所述微流体装置是台式仪器。在某些方面,所述微流体装置的较小的占地面积允许所述装置直接部署在细胞处理或测试室中。在某些方面,减少了需要在房间和/或实验室之间移动的样品的量,从而减少了与转移样品相关的身份链和/或监管链。

[0496] 在一些实施方案中,所述微流体盒含有样品组合物室。在一些实施方案中,所述微流体盒含有泡罩隔室。在一些实施方案中,所述微流体盒含有适于流体混合的处理隔室,所述处理隔室与所述样品组合物室和所述泡罩处于流体连通。在一些实施方案中,所述微流体盒含有评价室,所述评价室包括读取区,其中所述评价室与所述处理室处于流体连通。在一些实施方案中,所述读取区允许在所述样品通过所述读取区时对其进行分析。

[0497] 在一些实施方案中,所述样品被放置在所述样品组合物室内。在一些实施方案中,所述泡罩含有本文提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与可检测标记(例如,荧光标签)缀合。在一些实施方案中,所述

微流体盒被插入盒处理单元中。在一些实施方案中，所述盒处理单元使所述样品与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在所述处理隔室中接触和/或混合。在一些实施方案中，所述接触和/或混合导致形成靶抗体(例如，CAR)与抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。

[0498] 在其他实施方案中，将所述样品添加至含有干燥的抗独特型抗体或其抗原结合片段的管中。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与可检测标记(例如，荧光标签)缀合。在一些实施方案中，所述管还含有其他干燥的试剂，例如，其他标记的抗体、染料或裂解剂。在一些实施方案中，所述管被涡旋以用于使干燥的试剂混合和/或再水合。在一些实施方案中，混合后的样品被放置在样品组合物室内。在一些实施方案中，所述微流体盒被插入盒处理单元中。

[0499] 在一些实施方案中，所述盒处理单元使所述样品的各个细胞流过所述读取区。在一些实施方案中，所述盒处理单元测量来自与所述靶抗体(例如CAR)结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段的荧光信号。在一些实施方案中，使用光电单元测量荧光信号。在一些实施方案中，使用光谱分析来分析荧光信号。

[0500] 在一些实施方案中，所述靶抗体或抗原结合片段与细胞结合或在细胞表面上表达。在特定实施方案中，靶抗体(例如，CAR)不结合或不包含在细胞内，例如，在一些实施方案中，所述靶抗体是分泌的。在某些实施方案中，所述抗体已从细胞表面分离、去除和/或裂解。

[0501] 在一些实施方案中，所述靶抗体或抗原结合片段被包含在嵌合抗原受体(CAR)(如在细胞表面上表达的CAR)中。在一些实施方案中，所述细胞是干细胞(例如iPSC)或免疫细胞。在一些实施方案中，所述免疫细胞是T细胞，例如CD4+T细胞、CD8+T细胞、幼稚T($T_N$)细胞、效应T细胞($T_{EFF}$)、记忆T细胞、肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)、未成熟T细胞、成熟T细胞、辅助性T细胞、细胞毒性T细胞、粘膜相关不变T(MAIT)细胞、天然存在和适应性调节性T(Treg)细胞、辅助性T细胞(如TH1细胞、TH2细胞、TH3细胞、TH17细胞、TH9细胞、TH22细胞、滤泡辅助性T细胞、α/βT细胞、和/或δ/γT细胞)。在一些实施方案中，所述细胞来自组织，例如心脏、血管、唾液腺、食管、胃、肝、胆囊、胰腺、肠、结肠、直肠、下丘脑、垂体、松果腺、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、肾、输尿管、膀胱、尿道、淋巴系统、皮肤、肌肉、脑、脊髓、神经、卵巢、子宫、睾丸、前列腺、咽、喉、气管、支气管、肺、膈膜、骨、软骨、韧带或肌腱。

[0502] 在一些任何此类实施方案中，所述靶抗体是抗BCMA抗体。在一些任何此类实施方案中，所述抗BCMA抗体是靶抗体1，例如，如第I部分中所述。在一些任何此类实施方案中，所述抗BCMA抗体是靶抗体2，例如，如第I.A部分中所述。

[0503] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体1的抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体2的抗独特型抗体或其抗原结合片段，如本文(例如，在第I.A部分中)所述的任何这种抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的抗独特型抗体或其抗原结合片段，如本文(例如，在第I.B部分中)所述的任何这种抗独特型抗体或其抗原结合片段。

B.在细胞刺激中使用

[0504] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段是激动剂和/或展

现出刺激表达靶抗体的细胞的特异性活性，所述靶抗体包括含有其(如抗BCMA抗体(例如，靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段)的缀合物或嵌合受体。在一些实施方案中，提供了涉及使用所提供的抗独特型抗体和含有一种或多种此类抗独特型抗体的分子(如缀合物和复合物)来刺激或激活表达CAR或表达其他嵌合受体的细胞(如T细胞)的方法。在一些方面，所述CAR或其他受体包含靶抗体，如抗BCMA抗体(例如，靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段。

[0505] 在一些实施方案中，所述方法可以与制备基因工程化T细胞的方法结合使用，如与扩增基因工程化T细胞或已引入了编码包含靶抗体的嵌合受体(如CAR)的核酸分子(例如，通过转染、转导或核酸转移的非病毒手段(如基于转座子的方法))的其他细胞的方法结合使用。在一些方面，所述靶抗体是抗BCMA抗体(例如，靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段。在特定实施方案中，所述靶抗体是或含有CAR，例如，抗BCMA CAR。在特定实施方案中，所述抗BCMA CAR含有来自和/或源自抗BCMA抗体(如靶抗体1或靶抗体2)的scFv。

[0506] 在一些实施方案中，所述方法包括将包含用CAR转导的T细胞的样品与抗独特型抗体一起孵育。在某些实施方案中，所述方法还包括检测所述CAR T细胞是否被激活或刺激，如通过评估所述CAR T细胞的活力、增殖和/或其中的激活标记物的表达来检测。在一些实施方案中，所述靶抗体是抗BCMA抗体。在一些实施方案中，所述靶抗体是或源自靶抗体1或其抗原结合片段或靶抗体2或其抗原结合片段。

[0507] 在一些实施方案中，提供了一种刺激细胞的方法，所述方法包括将包含表达含有靶抗体(如靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段的CAR的细胞的输入组合物与结合或识别所述靶抗体的本文所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段一起孵育，从而产生包含刺激的细胞的输出组合物。在一些实施方案中，所述孵育在所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述CAR结合的条件下进行，从而诱导或调节所述输入组合物中的一个或多个细胞中的信号。在一些实施方案中，所述细胞包含T细胞。在一些实施方案中，所述T细胞包含CD4+和/或CD8+T细胞。

[0508] 在一些实施方案中，本文提供了一种通过将含有表达CAR的细胞的输入组合物与结合和/或识别所述CAR的抗ID抗体一起孵育来刺激或扩增表达CAR的细胞的方法。在一些实施方案中，抗ID抗体与CAR之间的结合诱导表达CAR的细胞的扩增，从而产生包含扩增的细胞的输出组合物。

[0509] 在一些实施方案中，本文提供了一种纯化抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括：(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与结合或识别靶抗体或其抗原结合片段的本文所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段或缀合物接触，以及(b)分离包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。在一些实施方案中，通过基于亲和力的分离来分离包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。在一些实施方案中，所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。在一些任何此类实施方案中，所述基于亲和力的分离是基于磁性的分离。在一些任何此类实施方案中，所述基于亲和力的分离是亲和色谱法。

[0510] 在一些实施方案中，使抗独特型抗体与一种或多种细胞的输入组合物接触或一起孵育以产生输出组合物。在某些实施方案中，所述输入细胞和/或所述输入组合物是如下组合物和/或多个细胞，其在将对输入组合物的细胞的至少一部分产生一种或多种变化的条

件下进行或需要进行处理、孵育或接触，从而将输入组合物转化为输出组合物。在一些实施方案中，所述输入细胞是免疫细胞的组合物，例如含有表达CAR的细胞的T细胞组合物。在特定实施方案中，通过实践所提供的方法，在所生成的输出组合物中输入组合物中的至少一部分细胞得以激活、扩增和/或富集。

[0511] 在某些实施方案中，所述抗独特型抗体扩增或富集输入组合物的CAR表达细胞。在一些实施方案中，输入组合物包含真核细胞，如哺乳动物细胞。在某些实施方案中，所述输入组合物含有人细胞。在一些实施方案中，所述输入组合物含有源自血液、骨髓、淋巴或淋巴器官的细胞。在特定实施方案中，所述输入组合物含有免疫系统的细胞，即先天免疫或适应性免疫的细胞，例如骨髓或淋巴样细胞(包括淋巴细胞，通常为T细胞和/或NK细胞)。在一些实施方案中，所述输入组合物含有干细胞，如多潜能干细胞和多能干细胞，包括诱导多能干细胞(iPSC)。在特定实施方案中，所述输入组合物含有$CD3^+$细胞。在某些实施方案中，所述输入组合物含有$CD4^+$细胞。在一些实施方案中，所述输入组合物含有$CD8^+$细胞。在一些实施方案中，所述输入组合物是CD4+细胞的组合物。在特定实施方案中，所述输入组合物是CD8+细胞的组合物。

[0512] 在一些实施方案中，所述方法和药剂能够刺激如下T细胞，所述T细胞缺乏或具有下调的一种或多种天然信号传导分子(如一种或多种共刺激受体或抗原受体或细胞因子受体)但表达由抗Id抗体识别的嵌合受体(例如，CAR)。在一些实施方案中，输入组合物的细胞的CD28或其他共刺激分子或其他信号传导分子的表面表达低或呈阴性。因此，在一些实施方案中，与可能需要或依赖于CD28或其他内源性信号传导分子的表面表达的某些其他激活或刺激剂或方法相比，所提供的药剂和方法具有某些优势以提供所需信号和/或这种信号的完整范围，例如，以提供共刺激信号和/或实现完全激活。在一些实施方案中，与抗CD3/抗CD28试剂(例如珠)相比，所提供的药剂和方法在这样的方面是有利的；在一些方面，所提供的抗ID抗体在能够刺激或实现所需的效果(如对CD28或其他天然信号传导分子为低或阴性的细胞的激活或增殖)方面是有利的。在一些方面，通过用抗ID抗体刺激而通过CAR进行信号传导导致仅使用单一试剂就产生经由CAR的初级和次级(共刺激)信号二者。在一些实施方案中，输入组合物包含表达低水平的CD28或其他内源信号传导分子的CD3+细胞。在一些实施方案中，所述输入组合物包含呈CD28阴性或呈其他内源信号传导分子阴性的CD3+细胞。在一些实施方案中，所述抗ID抗体刺激表达低水平的CD28的细胞或呈CD28阴性的细胞的激活和/或扩增。在一些实施方案中，使所述细胞与固定或结合至固体支持物的抗独特型抗体或抗原结合片段接触。在一些实施方案中，所述固体支持物是珠。在一些实施方案中，所述固体支持物是孔或板(例如细胞培养板)的表面。在一些例子中，所述抗ID抗体是可溶的。在某些实施方案中，在使所述细胞与所述抗独特型抗体或抗原结合片段接触之前，不使细胞与抗CD3/抗CD28缀合试剂接触。

[0513] 在某些实施方案中，将所述抗独特型抗体施加至细胞的输入组合物、与细胞的输入组合物接触或与细胞的输入组合物一起孵育，所述细胞已经用编码CAR的核苷酸转导或转染。在特定实施方案中，将输入细胞与抗独特型抗体一起孵育、用抗独特型抗体处理和/或与抗独特型抗体接触导致表达CAR的细胞的扩增和/或富集。在特定实施方案中，将输入细胞与抗独特型抗体一起孵育、用抗独特型抗体处理和/或与抗独特型抗体接触没有导致不表达CAR的细胞的扩增和/或富集。在特定实施方案中，将输入细胞与抗独特型抗体一起

孵育、用抗独特型抗体处理和/或与抗独特型抗体接触导致不表达CAR的细胞的扩增和/或富集，所述扩增和/或富集比表达CAR的细胞的扩增和/或富集少至少50％、至少75％、至少85％、至少90％、至少95％、至少99％、至少99.9％或至少99.99％。在一些实施方案中，本文提供的抗独特型抗体用于扩增经历低转导和/或转染效率和/或含有低量CAR表达细胞的输入组合物的CAR表达细胞。在某些实施方案中，所述抗独特型抗体选择性地扩增和/或富集CAR表达细胞。

[0514] 一些实施方案设想，与通过经由多克隆刺激(例如，抗CD3和/或抗CD28抗体刺激)扩增和/或富集细胞相比，所述抗独特型抗体更有效地扩增和/或富集具有低转导或转染效率和/或具有低量的表达CAR的细胞的输入组合物的细胞。在特定实施方案中，多克隆刺激导致在输入组合物中表达CAR的细胞和不表达CAR的细胞的扩增，并且因此在一些实施方案中可能无法富集CAR表达细胞，特别是当输入组合物具有低数量的CAR表达细胞时。相反，在一些实施方案中，与抗独特型抗体一起孵育导致CAR表达细胞的选择性扩增，并且因此在某些实施方案中将导致CAR表达细胞的选择性扩增和/或富集。在一些实施方案中，与通过多克隆刺激相比，将输入细胞与抗独特型抗体一起孵育、与抗独特型抗体接触和/或用抗独特型抗体处理导致CAR表达细胞更大的富集和/或扩增。

[0515] 在特定实施方案中，将抗独特型抗体与输入细胞一起孵育、施加至输入细胞和/或与输入细胞接触，与通过多克隆刺激扩增和/或富集的输入细胞相比，所述输入细胞是用较低的量的病毒颗粒、病毒载体颗粒与细胞的拷贝比率和/或感染单位(IU)转染和/或转导的。例如，在一些实施方案中，与所述抗独特型抗体一起孵育的输入组合物是由用比通过多克隆刺激扩增和/或富集的输入组合物少了或少了至少0.5个、1个、2个、3个、4个、5个、10个、15个、20个、30个、40个、50个或60个IU/细胞转导的细胞生成。在一些实施方案中，与所述抗独特型抗体一起孵育的输入组合物是由用比通过多克隆刺激扩增和/或富集的输入组合物小了或小了至少$1x10^5$IU/mL、$5x10^5$IU/mL、$1x10^6$IU/mL、$5x10^6$IU/mL、$6x10^6$IU/mL、$7x10^6$IU/mL、$8x10^6$IU/mL、$9x10^6$IU/mL、或$1x10^7$IU/mL的病毒载体粒子滴度转导的细胞生成。

[0516] 在特定实施方案中，用高IU/细胞来转导细胞将导致高的转导效率，但是在一些实施方案中，也可能导致具有高载体拷贝数(VCN)的转染细胞，这可能存在安全风险并且可能不符合监管标准。在特定实施方案中，降低转导细胞所用的IU/细胞将降低转导效率，但将降低VCN。在特定实施方案中，增加转导细胞所用的IU/细胞将增加转导效率，但也将增加VCN。

[0517] 在一些实施方案中，输入组合物含有已经用编码由抗独特型抗体结合或识别的CAR的一种或多种核酸转导或转染的细胞群体，或从已经用编码由抗独特型抗体结合或识别的CAR的一种或多种核酸转导或转染的细胞衍生的细胞。在一些实施方案中，所述输入组合物含有小于80％、小于75％、小于70％、小于65％、小于60％、小于55％、小于50％、小于45％、小于40％、小于35％、小于30％、小于25％、小于20％，小于15％、小于10％、小于5％或小于1％的作为CAR表达细胞的细胞。在特定实施方案中，来自输入组合物的细胞已经如第II部分中所述进行转染或转导。在某些实施方案中，所述输入细胞含有已转导或转染的细胞群体，或源自已转导或转染的细胞群体的细胞，所述转导或转染是使用编码抗BCMA CAR(如含有来自和/或源自抗BCMA抗体(如靶抗体1或靶抗体2)的scFv的抗BCMA CAR)的一种或多种核酸。

[0518] 在特定实施方案中，将来自输入组合物的细胞与抗独特型抗体一起孵育、与抗独特型抗体接触或用抗独特型处理是在用于刺激、扩增和/或激活细胞的条件下进行，所述条件可以包括以下中的一种或多种：特定培养基、温度、氧含量、二氧化碳含量、时间、药剂(例如营养素)、氨基酸、抗生素、离子和/或刺激因子(例如细胞因子、趋化因子)、抗原、结合配偶体、融合蛋白、重组可溶性受体和任何其他设计为激活细胞的药剂。

[0519] 在一些实施方案中，所述输入组合物的细胞已经用包含编码CAR的基因的一种核酸转染或转导，并且使所述细胞与结合或识别所述重组受体的抗独特型抗体接触、一起孵育或用其处理。在一些实施方案中，在所述细胞用编码CAR的核酸转导或转染之后，将输入组合物的细胞用抗独特型抗体处理、与抗独特型抗体一起孵育或与抗独特型抗体接触。在特定实施方案中，在将输入组合物的细胞已被转导或转染之后立即、约1分钟内、约5分钟内、约30分钟内、约1小时内、约2小时内、约4小时内、约6小时内、约8小时内、约12小时内、约24小时内、约2天内、约3天内、约4天内、约5天内、约6天内、约1周内、约2周内、约3周内、约4周内、约5周内或约6周内，将输入组合物的细胞用抗独特型抗体处理、与抗独特型抗体一起孵育、或与抗独特型抗体接触。

[0520] 在一些实施方案中，将输入组合物的细胞用可溶性抗独特型抗体处理、与可溶性抗独特型抗体一起孵育和/或与可溶性抗独特型抗体接触、与未交联的抗体接触和/或与未结合或附接至固体支持物的抗体接触。

[0521] 在一些实施方案中，所述方法导致表达由抗Id抗体识别的嵌合受体(如CAR)的细胞的增殖、激活、刺激、细胞因子释放或其他功能结果(例如激活标记物上调或细胞因子释放或产生)。在一些方面，在此类细胞中以类似于或大于通过将细胞与刺激T细胞增殖的药剂和/或条件(例如抗CD3/CD28珠和/或交联的抗CD3)一起孵育而诱导的程度诱导这种增殖或其他功能性应答或读数。在一些方面，所述方法不涉及抗独特型抗体的交联。在任何实施方案的一些方面，所述抗独特型药剂在不使所述抗独特型抗体交联的情况下能够诱导特定的增殖或其功能性结果或程度。在一些方面，本文中的抗独特型药剂在无需交联抗Id抗体或使用二级药剂的情况下在其刺激或引起表达靶受体的T细胞或其他免疫细胞的特定功能性结果的能力方面是有利的。在一些方面，所述结果是使用可溶或板结合形式的抗独特型抗体实现的。在一些方面，所述结果是使用与珠偶联的抗独特型抗体实现的。

[0522] 在特定实施方案中，将输入组合物的细胞用以下项处理、与以下项一起孵育和/或与以下项接触：在10pg/ml与100μg/ml之间、在1pg/ml与1ng/ml之间、在1ng/ml与1μg/l在100ng/ml与1.0μg/ml之间、在1ng/ml与100ng/ml之间、在10ng/ml与1.0μg/ml之间、在100ng/ml与10pg/ml之间、在250ng/ml与10μg/ml之间、在250pg/ml与1ng/ml之间、在1μg/ml与10μg/ml之间、在250ng与约2.5μg/ml之间、或在1μg/ml与10μg/ml。

[0523] 在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至固体支持物，所述固体支持物任选地包含含有能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点的试剂或与所述试剂缀合。在一些实施方案中，所述固体支持物是板或孔的表面。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至可溶性试剂，所述可溶性试剂任选地是或包含能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点。在一些实施方案中，所述试剂包含链霉亲和素突变蛋白。在一个示例性实施方案中，所述抗独特型抗体包含能够与存在于或固定在可溶性试剂上的链霉亲和素或链霉亲和

素突变蛋白分子结合的链霉亲和素结合肽或其他链霉亲和素结合部份，所述结合在一些情况下可以在竞争物质(例如生物素)的存在下被解离。此类系统的例子包括在PCT公开专利申请号WO 2015/158868中描述的那些。

[0524] 在特定实施方案中，将所述输入组合物的细胞用抗独特型抗体处理、与抗独特型抗体一起孵育和/或与抗独特型抗体接触，所述抗独特型抗体被附接、结合、包被和/或缀合至固体表面或支持物，例如，板或孔。在某些实施方案中，已经通过将所述固体表面或支持物与一定浓度的抗独特型抗体一起孵育，将所述抗独特型抗体附接、结合、包被和/或缀合至所述固体表面或支持物。在特定实施方案中，将所述固体表面或支持物与在10ng/ml与100μg/ml之间、在100ng/ml与1.0μg/ml之间、在250ng/ml与10μg/ml之间、在250ng/ml与1μg/ml之间、在1μg/ml与10μg/ml之间、在250ng与2.5μg/ml之间、或在1μg/ml与10μg/ml之间的抗独特型抗体一起孵育。在一些实施方案中，将所述固体表面或支持物与在250ng/ml与10μg/ml之间的抗独特型抗体一起孵育。在某些实施方案中，将所述固体表面或载体与为或约0.25μg/ml、0.5μg/ml、1.0μg/ml、1.25μg/ml、2μg/ml、2.5μg/ml、5μg/ml或10μg/ml的抗独特型抗体一起孵育。

[0525] 在一些实施方案中，所述孵育持续至少或约至少5分钟、10分钟、30分钟、60分钟、2小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或96小时。在一些实施方案中，所述输入组合物包含作为所述组合物中总细胞的百分比的小于或小于约60％、小于或小于约50％、小于或小于约40％、小于或小于约30％，小于或小于约20％或小于或小于约10％的CAR表达细胞。在一些实施方案中，与输入组合物中CAR表达细胞的数量相比，输出组合物中CAR表达细胞的数量增加大于1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍或更多；和/或输出组合物中CAR表达细胞相比于所述组合物中总细胞的百分比增加大于10％、20％、40％、50％、60％、70％、80％或更多。在一些实施方案中，在孵育之前，所述细胞未针对CAR表达细胞进行选择或富集。

[0526] 在某些实施方案中，将抗独特型抗体与来自输入组合物的细胞(例如包含表达CAR的细胞)接触或一起孵育，持续扩增输入组合物的一种或多种细胞(例如扩增输入组合物的表达重组受体的细胞)的时间量。在特定实施方案中，将来自输入组合物的细胞与抗独特型抗体接触、一起孵育或用抗独特型抗体处理至少约12小时、至少约24小时、至少约2天、至少约3天、至少约4天、至少约5天、至少约6天、至少约7天、至少约8天、至少约9天、至少约10天、至少约11天、至少约12天、至少约13天、至少约14天、至少约3周、或至少约4周。在特定实施方案中，将来自输入组合物的细胞与抗独特型抗体接触、一起孵育或用抗独特型抗体处理少于约1天、少于约2天、少于约3天、少于约4天、少于约5天、少于约6天、或少于或少于约12天。在一些实施方案中，将来自输入组合物的细胞与抗独特型抗体接触、一起孵育或用抗独特型抗体处理在约1天与约14天之间、约3天与7天之间、或4天与6天之间的时间。

[0527] 在特定实施方案中，将来自输入组合物的细胞(例如，包含表达CAR的细胞)在高于室温的温度下与抗独特型抗体一起孵育、与抗独特型抗体接触或用抗独特型抗体处理，以扩增所述输入组合物中表达重组受体的细胞。在一些实施方案中，所述处理、孵育或接触是在大于约25℃(例如通常大于或大于约32℃、35℃或37℃)的温度下进行。在一些实施方案中，所述处理、孵育或接触是在或在约37℃±2℃的温度下，例如在或在约37℃的温度下进行。

[0528] 在一些实施方案中，输出组合物的至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％、至少95％、至少97％、至少99％、至少99.9％、约100％、或100％的细胞表达CAR。

[0529] 在特定实施方案中，在与抗独特型抗体一起孵育、用抗独特型抗体处理和/或与抗独特型抗体接触的输出组合物中表达CAR的细胞的数量是输入组合物中表达CAR的细胞的数量的至少1％、至少5％、至少10％、至少15％、至少20％、至少25％、至少30％、至少35％、至少40％、至少45％、至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少95％、至少100％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍或至少100倍。

[0530] 在特定实施方案中，在与抗独特型抗体一起孵育、用抗独特型抗体处理和/或与抗独特型抗体接触的输出组合物中表达CAR的细胞的百分比是输入组合物中表达CAR的细胞的数量的至少1％、至少5％、至少10％、至少15％、至少20％、至少25％、至少30％、至少35％、至少40％、至少45％、至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少95％、至少100％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍或至少100倍。

[0531] 在一些实施方案中，在与抗独特型抗体一起孵育、用抗独特型抗体处理和/或与抗独特型抗体接触的输出组合物中表达CAR的细胞的数量是接受用抗CD3和抗CD28抗体的多克隆刺激、与其一起孵育的输出组合物中细胞的数量的至少1％、至少5％、至少10％、至少15％、至少20％、至少25％、至少30％、至少35％、至少40％、至少45％、至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少95％、至少100％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍或至少100倍。

[0532] 在某些实施方案中，在与抗独特型抗体一起孵育、用抗独特型抗体处理和/或与抗独特型抗体接触的输出组合物中表达CAR的细胞的百分比是接受用抗CD3和抗CD28抗体的多克隆刺激、与其一起孵育的输出组合物中细胞的数量的至少1％、至少5％、至少10％、至少15％、至少20％、至少25％、至少30％、至少35％、至少40％、至少45％、至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少95％、至少100％、至少2倍、至少3倍、至少4倍、至少5倍、至少6倍、至少7倍、至少8倍、至少9倍、至少10倍、至少15倍、至少20倍、至少25倍、至少50倍或至少100倍。

[0533] 在一些实施方案中，在与抗独特型抗体一起孵育、用抗独特型抗体处理和/或与抗独特型抗体接触的输出组合物中表达CAR的细胞含有比接受用抗CD3和抗CD28抗体的多克隆刺激(例如与其一起孵育)的输出组合物的细胞低至少1％、至少5％、至少10％、至少15％、至少20％、至少25％、至少30％、至少35％、至少40％、至少45％、至少50％、至少55％、至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少95％、或至少99％的VCN。在一些实施方案中，输出组合物的CAR表达细胞的平均VCN为不大于或不大于约10、5、4、2.5、1.5或1。

[0534] 在一些实施方案中，此类方法可以用作制造、分析和/或质量控制方法的一部分，例如与表达含有由抗独特型抗体识别的抗体或其片段的重组多肽的细胞疗法(如CAR T细

胞)的产生相关,以用于测试目的,包括测试工程化受体例如在工程化为用于在个体中的疗法中的细胞中的表达和/或效力。在某些实施方案中,所述细胞组合物可以在产生CAR表达T细胞的过程中的任何阶段进行测试。在特定实施方案中,可以在所述过程的任何阶段从细胞组合物收集细胞样品,并例如通过低温冷冻和/或低温保存进行储存以用于随后的测试和/或分析。测试的组合物可以是药物组合物,例如,包括含有细胞和药学上可接受的受体和/或低温保存剂的那些。

[0535] 在一些实施方案中,所述抗独特型抗体在体内刺激表达靶抗体(例如,CAR)的细胞。特定实施方案设想了CAR-T细胞疗法在治疗癌症和其他疾病和障碍方面是有效的。然而,在某些情境下,CAR-T细胞疗法的可用方法可能并不总是完全令人满意的。例如,在一些实施方案中,受试者中CAR表达细胞的暴露和持久性随时间减少或下降。然而,观察结果表明,在一些情况下,增加CAR表达细胞的暴露可能改善CAR-T细胞疗法的功效和治疗结果。因此,在一些实施方案中,施用抗独特型抗体以加强、增强和/或增加CAR表达细胞的持久性和/或扩增。

[0536] 在某些实施方案中,将所述抗独特型抗体施用至受试者,如先前已施用含有CAR表达细胞的治疗性细胞组合物的受试者。在一些实施方案中,向受试者施用抗独特型抗体促进受试者中CAR表达细胞的再扩增,在一些情况下,所述再扩增可能达到或超过在施用抗独特型抗体之前的扩增的初始峰水平。在一些实施方案中,在CAR表达细胞的水平已经下降或不可检测时施用所述抗独特型抗体以调节CAR表达细胞的扩增和/或持久性。在一些实施方案中,例如,与施用抗独特型抗体之前的效力相比,通过抗独特型抗体再扩增的CAR表达细胞在施用其的受试者中展现出增加的效力。

[0537] 在某些实施方案中,所述抗独特型抗体的施用增加或增强所述受试者中CAR表达细胞的持久性。在一些实施方案中,在施用抗独特型抗体后为或至少7天、14天、21天、28天、35天、42天、49天、56天、63天、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、或超过6个月,CAR表达细胞在受试者中是可检测的。在一些方面,增加的受试者对细胞的暴露包括细胞的扩增和/或增加的扩增。

[0538] 在一些实施方案中,在施用抗独特型抗体后,CAR表达细胞在受试者中扩增。在特定实施方案中,施用抗独特型抗体导致受试者的血液或血清或其他体液或器官或组织中的如下最大浓度:每微克DNA中至少100、500、1000、1500、2000、5000、10,000或15,000个编码CAR的核酸拷贝,或每微升中至少0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8或0.9个CAR表达细胞。在一些实施方案中,表达CAR的细胞被检测为受试者血液中总PBMC的至少10%、20%、30%、40%、50%或60%,和/或在施用抗独特型抗体后在这个水平下保持至少1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、11周、12周、24周、36周、48或52周,或在施用抗独特型抗体后保持1年、2年、3年、4或5年或更多年。在一些方面,施用所述抗独特型抗体导致例如受试者的血清、血浆、血液或组织(例如肿瘤样品)中,每微克DNA中编码重组受体(例如CAR)的核酸的拷贝数增加至少2倍、至少4倍、至少10倍或至少20倍。在特定实施方案中,施用所述抗独特型抗体导致所述受试者中循环CAR表达细胞的数量增加至少2倍、至少4倍、至少10倍或至少20倍。

[0539] 在一些方面,在施用抗独特型抗体后,在受试者或其体液、血浆、血清、组织或隔室中,例如在其血液(例如外周血)或患病部位中,可检测到或存在至少约$1x10^2$、至少约$1x10^3$、

至少约$1x10^4$、至少约$1x10^5$、或至少约$1x10^6$、或至少约$5x10^6$、或至少约$1x10^7$、或至少约$5x10^7$、或至少约$1x10^8$个CAR表达细胞，和/或每微升中至少10个、25个、50个、100个、200个、300个、400个或500或1000个CAR表达细胞(例如每微升中至少10个)。在一些实施方案中，在施用抗独特型抗体后至少约20天、至少约40天或至少约60天或至少约3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个月或至少2或3年内，受试者中此类细胞数量或浓度是可检测的。

[0540] 已知各种递送系统，并且其可以用于施用抗独特型抗体。在某些实施方案中，所述抗独特型抗体通过包封在脂质体、微粒和微胶囊中和/或附接至脂质体、微粒和微胶囊来施用。施用抗独特型抗体的方法包括但不限于皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、鼻内、硬膜外和口服途径。所述抗独特型抗体可以通过任何方便的途径给药，例如通过输注或团注，通过上皮或粘膜皮肤内层(例如，口服、直肠和肠粘膜等)吸收，并且可以与其他生物活性剂一起给药。施用可以是全身性的或局部的。也可以使用肺施用，例如通过使用吸入器或雾化器以及与雾化剂一起配制。在某些实施方案中，所述抗独特型抗体在囊泡、特别是脂质体(Langer,1990,Science 249:1527-1533)，例如阳离子脂质体(WO 98140052)中递送。

[0541] 在一些实施方案中，提供了一种产生细胞组合物的方法，所述方法包括：将编码CAR的核酸分子引入细胞中，从而产生输入组合物，以及将所述输入组合物与结合或识别CAR的抗原结合结构域的抗独特型抗体或其抗原结合片段一起孵育，从而产生所述细胞组合物。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是包含抗独特型抗体或其抗原结合片段的如本文所提供的免疫缀合物。在一些实施方案中，所述CAR包含结合或识别BCMA的靶抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，所述靶抗体是靶抗体1或靶抗体2或其抗原结合片段。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是本文所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是CAR的激动剂。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是CAR的拮抗剂。在一些实施方案中，所述引入包括通过病毒转导、转座、电穿孔或化学转染将所述核酸分子引入所述细胞中。在一些实施方案中，所述引入包括通过用包含所述核酸分子的逆转录病毒载体转导、通过用包含所述核酸分子的慢病毒载体转导、通过用包含所述核酸分子的转座子转座、或通过包含所述核酸分子的载体的电穿孔或转染将所述核酸分子引入所述细胞中。

[0542] 在一些实施方案中，所述方法还包括在引入编码CAR的核酸分子之前刺激或激活细胞的步骤。在一些实施方案中，激活细胞包括使细胞与CD3的激动剂和任选的CD28的激动剂接触。在一些实施方案中，激活细胞包括使所述细胞与包含激动性抗CD3和抗CD28抗体的试剂接触。在一些此类实施方案中，在与抗CD3/抗CD28接触的至少一部分期间和/或在引入编码CAR的核酸的至少一部分期间，所述方法包括使细胞与抗独特型抗体或抗原结合片段一起孵育或与抗独特型抗体或抗原结合片段接触。在一些实施方案中，所述孵育是在抗独特型抗体或其抗原结合片段与CAR结合的条件下进行的，从而在输入组合物中的一个或多个细胞中诱导或调节信号。在一些实施方案中，所述细胞包含T细胞。

[0543] 在一些此类实施方案中，所述T细胞包含CD4+和/或CD8+T细胞。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至固体支持物，所述固体支持物任选地包含含有能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点的试剂或与所述试剂缀合。在一些实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至可溶性

试剂,所述可溶性试剂任选地是或包含能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点。在一些实施方案中,所述试剂包含链霉亲和素突变蛋白。在一个示例性实施方案中,所述抗独特型抗体包含能够与存在于或固定在可溶性试剂上的链霉亲和素或链霉亲和素突变蛋白分子结合的链霉亲和素结合肽或其他链霉亲和素结合部份,所述结合在一些情况下可以在竞争物质(例如生物素)的存在下被解离。此类系统的例子包括在PCT公开专利申请号WO 2015/158868中描述的那些。在一些实施方案中,所述孵育持续至少或约至少5分钟、10分钟、30分钟、60分钟、2小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或96小时。在一些实施方案中,所述输入组合物包含作为所述组合物中总细胞的百分比的小于或小于约60%、小于或小于约50%、小于或小于约40%、小于或小于约30%,小于或小于约20%或小于或小于约10%的CAR表达细胞。在一些实施方案中,与输入组合物中CAR表达细胞的数量相比,输出组合物中CAR表达细胞的数量增加大于1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍或更多;和/或输出组合物中CAR表达细胞相比于所述组合物中总细胞的百分比增加大于10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%或更多。在一些实施方案中,在孵育之前,所述细胞未针对CAR表达细胞进行选择或富集。

[0544] 在一些实施方案中,提供了一种监测包含靶抗体(如靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段的CAR的活性的方法,所述方法包括如下步骤:将包含用CAR转导的T细胞的样品与靶向或结合CAR的激动性抗独特型抗体或其抗原结合片段一起孵育;和/或确定CAR T细胞的激活、刺激和/或扩增的存在、不存在或量,从而监测CAR-T细胞的活性。在一些实施方案中,此类方法可以用于验证CAR,在这种情况下,所述方法可以包括c)基于CAR-T细胞的激活、刺激和/或扩增的水平来验证CAR。

[0545] 在一些实施方案中,通过在与抗独特型抗体一起孵育一段时间后测定CAR T细胞的活力、增殖和/或其中的T细胞激活标记物的表达来评估CAR T细胞的激活、刺激和/或扩增。在一些实施方案中,通过计算与抗独特型抗体一起孵育后用CAR转导的活T细胞相对于总T细胞的百分比来评估CAR T细胞的活力。在一些实施方案中,通过在与抗独特型抗体一起孵育之前对用于染色CAR T细胞的染料稀释度来评估CAR T细胞的增殖。在一些实施方案中,通过流式细胞术并对识别T细胞激活标记物的抗体进行染色来评估T细胞激活标记物的表达。在一些实施方案中,所述T细胞激活标记物选自CD25、CD26、CD27、CD28、CD30、CD69、CD71、CD134、CD137和CD154。在一些实施方案中,孵育的时间段是从约1至约10天(如约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10天中的任一个,包括这些值之间的任何范围)。

[0546] 在一些实施方案中,提供了一种监测CAR T细胞的制剂的方法,其中所述CAR包含靶抗体(如靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段,所述方法包括:a)将所述制剂的一部分与靶向或结合CAR的激动性抗独特型抗体或其抗原结合片段一起孵育;和b)确定所述CAR T细胞的激活、刺激和/或扩增的存在、不存在或量。在一些实施方案中,所述CAR-T细胞的制剂可以是在期望测试的特定条件下产生或制造的细胞。在一些实施方案中,所述监测与释放测定结合进行,如以用于在向受试者施用之前验证所述细胞。在一些方面,所述方法还包括c)基于所述CAR T细胞的激活水平验证所述制剂。在一些实施方案中,通过在与抗独特型抗体一起孵育一段时间后测定CAR T细胞的活力、增殖和/或其中的T细胞激活标记物的表达来评估CAR T细胞的激活。在一些实施方案中,通过计算与抗独特型抗体一起孵育后用CAR转导的活T细胞相对于总T细胞的百分比来评估CAR T细胞的活力。在一些实施方案中,

通过在与抗独特型抗体一起孵育之前对用于染色CAR T细胞的染料稀释度来评估CAR T细胞的增殖。在一些实施方案中，通过流式细胞术并对识别T细胞激活标记物的抗体进行染色来评估T细胞激活标记物的表达。在一些实施方案中，所述T细胞激活标记物选自CD25、CD26、CD27、CD28、CD30、CD69、CD71、CD134、CD137和CD154。在一些实施方案中，孵育的时间段是从约1至约10天(如约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10天中的任一个，包括这些值之间的任何范围)。

[0547] 在一些实施方案中，所述靶抗体是抗BCMA抗体。在一些任何此类实施方案中，所述抗BCMA抗体是靶抗体1。在一些任何此类实施方案中，所述抗BCMA抗体是靶抗体2，例如，如第I.A部分中所述。

[0548] 在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体1的抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体2的抗独特型抗体或其抗原结合片段，如本文(例如，在第I.A部分中)所述的任何这种抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中，所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的抗独特型抗体或其抗原结合片段，如本文(例如，在第I.B部分中)所述的任何这种抗独特型抗体或其抗原结合片段。

C.在细胞失活/耗尽中使用

[0549] 在一些实施方案中，所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段是拮抗剂和/或展现出抑制、消融和/或耗尽(例如，经由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性，ADCC)表达靶抗体(如抗BCMA抗体(例如，靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段)的细胞的特异性活性。还提供了涉及使用所提供的抗独特型抗体和含有一种或多种此类抗独特型抗体的分子(例如缀合物和复合物)用于CAR T细胞的失活、消融和/或耗尽的方法，其中所述CAR包含靶抗体，如抗BCMA抗体(例如，靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段。

[0550] 在一些实施方案中，所述方法包括将包含用CAR转导的T细胞的组合物和/或样品用抗独特型抗体处理、与抗独特型抗体接触和/或与抗独特型抗体一起孵育。在某些实施方案中，所述方法还包括检测所述CAR T细胞是否失活，如通过评估所述CAR T细胞的活力、增殖和/或其中的激活标记物的表达来检测。在一些实施方案中，所述方法与包括施用CAR T细胞的疗法组合。在一些实施方案中，所述方法包括向个体施用抗独特型抗体。在一个实施方案中，抗独特型抗体或缀合物用于消融和/或耗尽(如杀伤)个体中的CAR T细胞。在一些实施方案中，所述靶抗体是抗BCMA抗体。在一些实施方案中，所述靶抗体是或源自靶抗体1或靶抗体2或其抗原结合片段。

[0551] 在一些实施方案中，施用抗独特型抗体以耗尽、降低和/或减少受试者中CAR表达细胞的数量。在特定实施方案中，施用抗独特型抗体使CAR表达细胞(例如，循环CAR-T细胞)的量耗尽、降低和/或减少至少25％、至少50％、至少60％、至少70％、至少80％、至少90％、至少95％、至少99％、至少99.9％、100％或约100％。在某些实施方案中，所述耗尽、降低和/或减少是关于在施用抗独特型抗体之前受试者中CAR表达细胞的量。在特定实施方案中，所述耗尽、降低和/或减少是关于未施用抗独特型抗体的受试者中CAR表达细胞的量。在一些实施方案中，在施用抗独特型抗体后，在受试者中未检测到CAR表达细胞。在特定实施方案中，所述抗独特型抗体是人抗体或人源化抗体。

[0552] 在一些实施方案中,提供了一种使CAR T细胞失活的方法,其中所述CAR包含靶抗体(如靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段,所述方法包括将包含CAR T细胞的样品与靶向CAR的拮抗性抗独特型抗体或其抗原结合片段一起孵育,从而使样品中的CAR T细胞失活。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是以足以减弱样品中CAR T细胞的激活的量使用。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是以足以使样品中CAR T细胞基本失活的量使用。在一些实施方案中,与抗独特型抗体一起孵育导致样品中CAR T细胞的消融和/或耗尽。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是以足以导致样品中CAR T细胞的清除的量使用。

[0553] 在一些实施方案中,施用抗独特型抗体以耗尽、降低和/或减少受试者中CAR和/或CAR表达细胞的活性。在特定实施方案中,施用抗独特型抗体使CAR和/或CAR表达细胞的刺激和/或激活降低和/或减少至少25%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少99%、至少99.9%、100%或约100%。在某些实施方案中,所述降低和/或减少是关于在施用抗独特型抗体之前受试者中CAR和/或CAR表达细胞的刺激和/或活性。在特定实施方案中,所述降低和/或减少是关于未施用抗独特型抗体的受试者中CAR和/或CAR表达细胞的刺激和/或活性。在一些实施方案中,所述活性和/或刺激是指CAR受体或CAR T细胞活性的一个或多个方面,并且可以通过任何合适的已知手段来评估,包括通过本文提供的任何手段来评估。在一些实施方案中,在施用抗独特型抗体后,在受试者中未检测到CAR和/或CAR表达细胞的活性和/或刺激。在特定实施方案中,所述抗独特型抗体是人抗体或人源化抗体。

[0554] 在一些实施方案中,施用抗独特型抗体以阻止、降低和/或减少CAR和/或CAR表达细胞与抗原的结合和/或与抗原结合的能力。在特定实施方案中,施用抗独特型抗体使CAR和/或CAR表达细胞的抗原结合降低和/或减少至少25%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少99%、至少99.9%、100%或约100%。在某些实施方案中,所述降低和/或减少是关于在施用抗独特型抗体之前受试者中CAR和/或CAR表达细胞的抗原结合和/或与抗原结合的能力。在特定实施方案中,所述降低和/或减少是关于未施用抗独特型抗体的受试者中CAR和/或CAR表达细胞的抗原结合和/或结合抗原的能力。在特定实施方案中,所述抗独特型抗体是人抗体或人源化抗体。

[0555] 在一些实施方案中,提供了一种消融和/或耗尽(如杀伤)CAR T细胞的方法,其中所述CAR包含靶抗体(如靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段,所述方法包括将包含CAR T细胞的样品与靶向CAR的抗独特型抗体或其抗原结合片段一起孵育,从而消融和/或耗尽样品中的CAR T细胞。在一些实施方案中,所述消融和/或耗尽是通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是以足以导致样品中基本上所有的CAR T细胞的消融和/或耗尽的量使用。

[0556] 在一些实施方案中,提供了一种调节个体中CAR T细胞疗法的方法,其中所述CAR包含靶抗体(如靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段,所述方法包括向个体施用靶向CAR的拮抗性抗独特型抗体或其抗原结合片段,从而使CAR T细胞失活。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是以足以减弱个体中CAR T细胞的激活的量施用。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是以足以使个体中CAR T细胞基本上失活的量施用。在一些实施方案中,施用抗独特型抗体导致个体中CAR T细胞的消融和/或耗尽。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体是以足以导致个体中CAR T细胞的清除的量施用。

[0557] 在一些实施方案中,提供了一种调节个体中CAR T细胞疗法的方法,其中所述CAR包含靶抗体(如靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段,所述方法包括向所述个体施用靶向CAR的抗独特型抗体免疫缀合物,其中所述抗独特型抗体免疫缀合物包含细胞毒性剂。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体免疫缀合物是以足以减弱个体中CAR T细胞疗法的量施用。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体免疫缀合物是以足以基本上停止个体中CAR T细胞疗法的量施用。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体免疫缀合物是以足以导致个体中CAR T细胞的清除的量施用。在一些实施方案中,所述细胞毒性剂选自如化学治疗剂或药物、生长抑制剂、毒素(例如,蛋白质毒素,细菌、真菌、植物或动物来源的酶促活性毒素或其片段))和放射性同位素。

[0558] 在一些实施方案中,提供了一种耗尽细胞的方法,所述方法包括向受试者施用结合或识别靶抗体或其抗原结合片段(例如,靶抗体1或靶抗体2)的包含如本文提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段的组合物或如本文提供的免疫缀合物,其中所述受试者已被施用表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞。在一些实施方案中,所述耗尽经由抗体介导的细胞毒性(ADCC)发生。

[0559] 在一些实施方案中,所述靶抗体是抗BCMA抗体。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA抗体是靶抗体1。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA抗体是靶抗体2,例如,如第I.A部分中所述。

[0560] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体1的抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体2的抗独特型抗体或其抗原结合片段,如本文(例如,在第I.A部分中)所述的任何这种抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体1和靶抗体2的抗独特型抗体或其抗原结合片段,如本文(例如,在第I.B部分中)所述的任何这种抗独特型抗体或其抗原结合片段。

D.在结合测定或方法中使用

[0561] 本文提供了用于评估样品中与嵌合抗原受体(CAR)(如CAR的胞外结构域或其含有抗原结合结构域的部分)结合的分子的存在或不存在的方法。在一些实施方案中,所述方法可用于评估被施用包含嵌合抗原受体(CAR)的细胞疗法的受试者中体液应答或抗体应答的存在或不存在。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体包含靶抗体,所述靶抗体是靶抗体1或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体包含靶抗体,所述靶抗体是靶抗体2或其抗原结合片段。在一些实施方案中,结合或识别CAR的胞外结构域的抗独特型抗体或其抗原结合片段(如本文所述的任一种)可以用作所述方法中的阳性对照。

[0562] 在特定实施方案中,所述方法包括使样品与抗独特型抗体或其抗原结合片段接触,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段以如下浓度结合或识别CAR的胞外结构域:在10ng/ml与100μg/ml之间、在100ng/ml与1.0μg/ml之间、在250ng/ml与10μg/ml之间、在250ng/ml与1μg/ml之间、在1μg/ml与10μg/ml之间、在250ng与2.5μg/ml之间、或在1μg/ml与10μg/ml的抗独特型抗体。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体的浓度在250ng/ml与10μg/ml之间。在某些实施方案中,所述抗独特型抗体的浓度是约0.1μg/ml、0.25μg/ml、0.5μg/ml、1.0μg/ml、1.25μg/ml、2μg/ml、2.5μg/ml或5μg/ml的抗独特型抗体。

[0563] 在一些方面，过继细胞疗法可能与受试者中对所施用的细胞和/或构建体的免疫应答的发展相关。例如，在一些情况下，暴露于嵌合受体可能受到针对由所施用的细胞表达的重组受体的宿主免疫应答的限制，这可能过早地消除细胞。观察到，即使在某些患有B细胞恶性肿瘤的受试者中，他们通常是免疫功能低下的，也可能检测到对过继细胞疗法中所施用的细胞表达的受体区域具有特异性的免疫应答。例如，施用了用CAR基因工程化的细胞的受试者(例如人受试者)可能出现对嵌合区域的免疫原性区域(包括可能含有非人序列(例如鼠scFv)的区域)和或含有嵌合受体的两个结构域或部分(例如CAR的跨膜和共刺激结构域)之间的接合处的区域的特异性免疫应答。

[0564] 在一些实施方案中，本发明提供了涉及将结合试剂与来自已被施用细胞疗法的受试者的样品接触或一起孵育的方法，所述细胞疗法包含用嵌合抗原受体工程化的细胞，其中所述结合试剂是蛋白质，所述蛋白质包括含有靶抗体或抗原结合部分的CAR的胞外结构域或其一部分。在一些实施方案中，所述方法还包括检测结合试剂与存在于样品中的分子(例如结合分子，如抗体)之间是否形成复合物，和/或检测这种结合的存在或不存在或水平。在某些实施方案中，所述接触或孵育是在允许所述结合试剂与来自所述受试者的样品中存在的分子结合的条件下进行的。在某些方面，所述方法可以进一步在阳性对照样品上进行，所述阳性对照样品含有结合或识别CAR的抗独特型抗体或其抗原结合片段，如所述任一种。在一些实施方案中，确定所述分子与所述结合试剂的结合的存在、不存在或水平可以包括将所述结合或检测与阳性对照样品对于结合试剂的结合或检测进行比较。

[0565] 在一些实施方案中，所述细胞疗法是或包含表达抗BCMA CAR的基因工程化细胞，所述抗BCMA CAR包含靶抗体1或其抗原结合片段，其中所述结合试剂包含含有靶抗体1或其抗原结合片段的CAR的胞外结构域或其一部分。

[0566] 在一些实施方案中，所述细胞疗法是或包含表达抗BCMA CAR的基因工程化细胞，所述抗BCMA CAR包含靶抗体2或其抗原结合片段，其中所述结合试剂包含含有靶抗体2或其抗原结合片段的CAR的胞外结构域或其一部分。在一些实施方案中，所述阳性对照包括如第I.A部分中所述的抗独特型抗体。

[0567] 在一些实施方案中，所述方法包括检测结合试剂与存在于样品中的分子(例如结合分子，如抗体)之间是否形成复合物，和/或检测这种结合的存在或不存在或水平。在某些实施方案中，所述接触或孵育是在允许所述结合试剂与来自所述受试者的样品中存在的分子结合的条件下进行的。在一些方面，所述复合物通过免疫测定、任选夹心或桥式测定来检测。例如，所述免疫测定是酶联免疫吸附测定(ELISA)、化学发光、电化学发光、基于表面等离子体共振(SPR)的生物传感器(例如，BIAcore)、流式细胞术或蛋白质印迹。在一些实施方案中，所述免疫测定是或包括meso scale discovery。

[0568] 在一些方面，所述免疫测定是夹心测定或桥式测定。在夹心或桥式测定中，所述结合试剂是第一结合试剂并且检测分子或包含分子的复合物的存在或不存在包括使在第一结合试剂与分子之间形成的复合物与第二结合试剂接触，其中所述第二结合试剂是能够与第一结合试剂结合相同或相似分子的药剂。在一些实施方案中，所述第二结合试剂包含CAR的胞外结构域或其一部分。在一些方面，所述第一结合剂和所述第二结合剂的CAR的胞外结构域或其部分是相同的或基本上相同的。

[0569] 在一些实施方案中，所述结合试剂(如所述第一结合试剂和/或所述第二结合试

剂)被可检测地标记或能够产生可检测信号。所述结合试剂(如所述第一结合试剂和/或所述第二结合试剂)直接或间接与可检测标记连接。在一些实施方案中,所述可检测标记是或包括荧光标记、化学发光标记、电致发光标记、比色标记、生物发光标记或放射性标记。在一些实施方案中,所述结合试剂(如所述第一结合试剂和/或所述第二结合试剂)直接或间接与磺基标签连接。在一些实施方案中,所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的至少一个被可检测地标记或能够产生可检测信号,并且所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的另一个被附接至或固定至固体支持物。在一些方面,所述第一结合试剂被附接至或固定至固体支持物,或者能够被附接至或固定至固体支持物。用于将结合试剂直接或间接附接至固体支持物的方法是本领域熟知的。附接的方法通常包括将结合试剂非特异性地吸附至固体支持物,或将结合试剂共价附接(通常通过游离胺基团)至固体支持物上的化学反应性基团,如激活的羧基、羟基或醛基团。附接的方法还包括将结合试剂间接附接至固体支持物,如通过用捕获试剂(如链霉亲和素)包被固体支持物,并将亲和标记的结合试剂(如生物素标记的试剂)添加至固体支持物,使得亲和标记(例如,生物素)与捕获试剂(例如,链霉亲和素)之间的相互作用将结合试剂连接至固体支持物。在一些实施方案中,所述第一结合试剂直接或间接与生物素连接。在一些实施方案中,所述第一可溶性试剂与用链霉亲和素包被的固体支持物结合。在一些实施方案中,所述第二结合试剂直接或间接与可检测的标记、任选磺基标签连接。

[0570] 在特定实施方案中,使所述样品与第一结合试剂接触,所述第一结合试剂被附接、结合、包被和/或缀合至固体表面或支持物,例如板或孔。在某些实施方案中,通过将结合试剂间接附接至固体支持物,将所述第一结合试剂附接、结合、包被和/或缀合至固体表面或支持物,如通过用捕获试剂(如链霉亲和素)包被固体支持物,并将亲和标记的结合试剂(如生物素标记的试剂)添加至固体支持物,使得亲和标记(例如,生物素)与捕获试剂(例如,链霉亲和素)之间的相互作用将结合试剂连接至固体支持物。在一些实施方案中,使所述样品与直接或间接连接至磺基标签的第二结合试剂接触。在特定实施方案中,所述第一结合试剂和/或所述第二结合试剂以如下浓度使用:在10ng/ml与100μg/ml之间、在100ng/ml与1.0μg/ml之间、在250ng/ml与10μg/ml之间、在250ng/ml与1μg/ml之间、在1μg/ml与10μg/ml之间、在250ng与2.5μg/ml之间、或在1μg/ml与10μg/ml之间的抗独特型抗体。在一些实施方案中,将所述固体表面或支持物与在250ng/ml与10μg/ml之间的抗独特型抗体一起孵育。在某些实施方案中,将所述固体表面或载体与为或约0.25μg/ml、0.5μg/ml、1.0μg/ml、1.25μg/ml、2μg/ml、2.5μg/ml、5μg/ml或10μg/ml一起孵育。

[0571] 在一些实施方案中,来自已被施用包含用嵌合抗原受体工程化的细胞的细胞疗法的受试者的样品是或包含来自所述受试者的任何体液样品。在一些方面,所述样品是或包含全血、血清或血浆。在一些实施方案中,所述样品是在细胞疗法或细胞剂量开始施用后在1小时至1年内或大约在1小时至1年内获得的,如在6小时、12小时、24小时、一周、两周、三周、一个月、两个月、三个月、四个月、五个月、六个月、七个月、八个月、九个月、十个月、十一个月或十二个月内或大约在6小时、12小时、24小时、一周、两周、三周、一个月、两个月、三个月、四个月、五个月、六个月、七个月、八个月、九个月、十个月、十一个月或十二个月内获得的。在一些方面,所述样品是在从细胞疗法开始施用后从或从约1个月至6个月,如2个月至6个月或2个月至4个月,例如约或大约2个月、3个月、4个月、5个月或6个月获得的。

[0572] 在一些实施方案中,所述靶抗体是抗BCMA抗体。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA抗体是靶抗体1。在一些任何此类实施方案中,所述抗BCMA抗体是靶抗体2,例如,如第I.A部分中所述。

[0573] 在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体1的抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体2的抗独特型抗体或其抗原结合片段,如本文(例如,在第I.A部分中)所述的任何这种抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些任何此类实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是结合或识别靶抗体1和/或靶抗体2的抗独特型抗体或其抗原结合片段,如本文(例如,在第I.B部分中)所述的任何这种抗独特型抗体或其抗原结合片段。

V.制品或试剂盒

[0574] 还提供了含有所提供的抗独特型抗体和/或组合物的制品或试剂盒。在一些实施方案中,提供了包含抗独特型抗体或其抗原结合片段的制品。在一些情况下,所述抗独特型抗体结合抗BCMA抗体或其抗原结合片段或包含抗BCMA抗体或其抗原结合片段的嵌合抗原受体。在一些实施方案中,所述抗BCMA抗体是靶抗体1。在一些实施方案中,所述抗BCMA抗体是靶抗体2。在一些方面,包含本文所述的抗独特型抗体的缀合物提供于制品或试剂盒中。

[0575] 在一些实施方案中,所述试剂盒或制品包含抗独特型抗体或其抗原结合片段和结合试剂,所述结合试剂含有所述抗独特型抗体结合(如特异性地结合)或识别的嵌合抗原受体(CAR)的胞外结构域或胞外结构域的一部分。在一些实施方案中,CAR的胞外结构域是或包含抗BCMA抗体(例如,靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段。

[0576] 在一些实施方案中,所述试剂盒或制品包含抗独特型抗体或其抗原结合片段以及使用所述抗独特型抗体或其抗原结合片段用于以下用途的说明书:(i)检测靶抗体或其抗原结合片段或包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR;和/或(ii)从细胞群体选择或富集表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的工程化细胞;和/或(iii)刺激包含表达含有所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞的输入组合物。

[0577] 在一些实施方案中,所述试剂盒或制品包含结合试剂,所述结合试剂含有包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的胞外结构域,所述胞外结构域或其部分包含所述靶抗体或其抗原结合片段;以及如本文所提供的抗独特型抗体或其抗原结合片段或缀合物。

[0578] 在一些实施方案中,所述结合试剂是第一结合试剂,并且所述试剂盒或制品还包含第二结合试剂。在这样的例子中,所述第二结合试剂是能够与所述第一结合试剂结合相同或相似的分子的药剂。在一些实施方案中,所述第二结合试剂包含CAR的胞外结构域或其一部分。在一些方面,所述第一结合剂和所述第二结合剂的CAR的胞外结构域或其部分是相同的或基本上相同的。

[0579] 在一些实施方案中,所述结合试剂或所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的至少一个被附接至标记(例如可检测标记),如本文所述的标记。在一些实施方案中,所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的至少一个被附接至固体支持物或能够被附接至固体支持物,如本文所述的固体支持物。在一些方面,所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的一个被可检测地标记或能够产生可检测信号,并且所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的另一个被附接至或固定至固体支持物。在一些实施方案中,所述结合试剂作为试剂

盒或作为如本文别处所述的系统的一部分提供,以用于与免疫测定(例如夹心或桥式测定)结合使用。在一些实施方案中,所述第一结合试剂与固体支持物结合,任选地与链霉亲和素包被的固体支持物结合。在一些实施方案中,所述第二可溶性蛋白质直接或间接与可检测标记(如磺基标签)连接。

[0580] 在一些实施方案中,所述试剂盒进一步包含抗独特型抗体或抗原结合片段。在一些方面,所述抗独特型抗体结合抗BCMA抗体或其抗原结合片段或包含抗BCMA抗体或其抗原结合片段的嵌合抗原受体。在一些实施方案中,所述抗BCMA抗体是靶抗体1或靶抗体2。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段作为阳性对照样品提供。在一些例子中,所述阳性对照样品与所述第一可溶性蛋白质或试剂和第二可溶性蛋白质或试剂形成复合物,所述复合物含有包含抗BCMA抗体或其抗原结合片段的嵌合抗原受体(CAR)的胞外结构域的区域。

[0581] 在一些实施方案中,所述试剂盒或制品包含盒装置,例如以用于在第IV.A部分中所述的任何方法中。在一些实施方案中,所述微流体盒含有样品组合物室。在一些实施方案中,所述微流体盒含有泡罩隔室。在一些实施方案中,所述微流体盒含有适于流体混合的处理隔室,所述处理隔室与所述样品组合物室和所述泡罩处于流体连通。在一些实施方案中,所述微流体盒含有评价室,所述评价室包括读取区,其中所述评价室与所述处理室处于流体连通。在一些实施方案中,所述读取区允许在所述样品通过所述读取区时对其进行分析。

[0582] 在一些实施方案中,所述泡罩含有抗独特型抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,所述抗独特型抗体与可检测标记(例如荧光标记)缀合。在一些方面,所述抗独特型抗体结合抗BCMA抗体或其抗原结合片段或包含抗BCMA抗体或其抗原结合片段的嵌合抗原受体。在一些例子中,所述抗BCMA抗体是如例如第I.A部分中所述的靶抗BCMA抗体。

[0583] 在一些实施方案中,所述试剂盒或制品包含干燥的抗独特型抗体或其抗原结合片段,例如以用于第IV.A部分中所述的任何方法中。在一些实施方案中,所述干燥的抗独特型抗体与可检测标记(例如荧光标记)缀合。在一些方面,所述干燥的抗独特型抗体结合抗BCMA抗体或其抗原结合片段或包含抗BCMA抗体或其抗原结合片段的嵌合抗原受体。在一些例子中,所述抗BCMA抗体是如例如第I.A部分中所述的靶抗BCMA抗体。在一些实施方案中,所述干燥的抗独特型抗体或其抗原结合片段被包含在管中。在一些实施方案中,所述管还含有其他干燥的试剂,例如,其他标记的抗体、染料或细胞裂解剂。

[0584] 在一些实施方案中,所述试剂盒或制品包含用于实施所提供的任一种方法的试剂或组分。在一些实施方案中,所述制品或试剂盒包含一种或多种试剂或从商业、治疗和用户立场期望的其他材料,包括二抗、亲和标记、捕获试剂、缓冲液、稀释剂、信号检测剂、过滤器、针、注射器、毛细管、以及带有使用说明书的包装插页。

[0585] 在一些实施方案中,所述试剂盒可以作为包含包装材料的制品提供,所述包装材料用于包装抗体或其组合物或一种或多种另外的试剂(例如结合试剂)或组分。例如,所述试剂盒可以含有容器、瓶子、管、小瓶以及适合用于分离或组织试剂盒的组件的任何包装材料。

[0586] 在一些实施方案中,所述试剂盒包含一个或多个容器。合适的容器包括例如瓶、小瓶(例如双室小瓶)、注射器(诸如单室或双室注射器)和试管。所述一个或多个容器可以用各种材料(如玻璃或塑料)制成。所述一个或多个容器容纳用于所述方法中的包含抗体或其

他试剂(例如结合试剂)的组合物。本文的制品或试剂盒可以包含在单独的容器中或在同一容器中的抗体或试剂。在一些实施方案中,容纳组合物的所述一个或多个容器可以是一次性小瓶或多次使用的小瓶,所述多次使用的小瓶在一些情况下可以允许重构组合物的重复使用。

[0587] 在一些实施方案中,所述制品或试剂盒还可包含含有合适的稀释剂的第二容器。所述制品或试剂盒可进一步包含从商业、治疗和用户角度来看希望的其他材料,包括其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针、注射器、治疗剂和/或带有使用说明书的包装插页。

[0588] 所述制品可以包括容器和在所述容器上或与所述容器相关的标签或包装说明书。合适的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可以由各种材料(例如玻璃或塑料)形成。在一些实施方案中,所述容器容纳含有如本文所提供的抗独特型抗体的组合物,所述组合物自身或与另一种组合物组合地有效治疗、预防和/或诊断疾病或病症。在一些实施方案中,所述容器具有无菌接入端口。示例性容器包括静脉内溶液袋、小瓶,包括具有可被注射用针刺穿的塞子的那些。所述制品可以包含其中含有组合物的第一容器,其中所述组合物包含抗独特型抗体。可替代地或另外地,所述制品还可以包括另一种或相同的容器,所述另一种或相同的容器包含可接受的缓冲液。所述容器还可以包括其他材料,如其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针和/或注射器。

[0589] 在一些实施方案中,所述制品或试剂盒包含固体支持物,包括由玻璃(例如,可控孔度玻璃)、多糖(例如,琼脂糖)、聚丙烯酰胺、聚苯乙烯、聚乙烯醇、硝化纤维素、纤维素、尼龙、硅酮和本领域熟知的用于直接或间接附接如所述的结合试剂的固体支持物中的其他材料构成的固体支持物。包含在本文提供的制品或试剂盒中的固体支持物包括但不限于珠、柱(例如,色谱柱等)、阵列(例如,微阵列、纳米阵列等)、测定板、盒、棒、过滤器、条带或本文所述的任何其他固体支持物。

[0590] 在一些实施方案中,所述制品或试剂盒还可包含含有合适的稀释剂的第二容器。所述制品或试剂盒可进一步包含从商业、治疗和用户角度来看希望的其他材料,包括其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针、注射器、治疗剂和/或带有使用说明书的包装插页。

[0591] 在一些实施方案中,所述试剂盒可以任选地包含说明书。说明书通常包括有形表达,其描述了抗体和任选包含在试剂盒中的其他组分(例如结合试剂)以及将所述抗体和/或其他组分用于如本文所述的任何用途或方法中和将所述抗体和/或其他组分与如本文所述的任何用途或方法结合使用的方法。在一些实施方案中,所述说明书被提供为标签或包装插页,所述标签或包装插页在所述容器上或与所述容器相关联。在一些实施方案中,所述说明书可以指示组合物的重构和/或使用的指南。

[0592] 在一些实施方案中,提供了如根据或结合如所述的任何方法或测定使用抗独特型抗体检测靶抗体1或其抗原结合片段或包含靶抗体1或其抗原结合片段的嵌合抗原受体的说明书。在一些例子中,提供了使用抗独特型抗体从细胞群体选择或富集表达包含靶抗体1或其抗原结合片段的嵌合抗原受体(CAR)的工程化细胞的说明书。在一些例子中,提供了使用抗独特型抗体刺激输入组合物的说明书,所述输入组合物包含表达含有靶抗体1或其抗原结合片段的嵌合抗原受体的细胞。

[0593] 在一些实施方案中,提供了如根据或结合如所述的任何方法或测定使用抗独特型抗体检测靶抗体2或其抗原结合片段或包含靶抗体2或其抗原结合片段的嵌合抗原受体的

说明书。在一些方面，提供了使用抗独特型抗体从细胞群体选择或富集表达包含靶抗体2或其抗原结合片段的嵌合抗原受体(CAR)的工程化细胞的说明书。在一些实施方案中，提供了使用抗独特型抗体刺激输入组合物的说明书，所述输入组合物包含表达含有靶抗体2或其抗原结合片段的嵌合抗原受体的细胞。

[0594] 在一些实施方案中，提供了用于检测与细胞疗法的嵌合抗原受体结合的分子(如抗体，例如通过对所述嵌合抗原受体(CAR)的体液免疫应答产生的抗体)的试剂盒的使用说明书。在一些实施方案中，提供了用于使结合试剂与来自受试者的样品接触的说明书，所述受试者已被施用了用包含靶抗体的CAR工程化的细胞的细胞疗法，所述靶抗体是抗BCMA抗体(例如，靶抗体1或靶抗体2)或其抗原结合片段，其中所述结合试剂包含CAR的胞外结构域或含有靶抗体或其抗原结合片段的胞外结构域的一部分。在一些方面，所述说明书还指定检测复合物的存在或不存在，所述复合物包含结合试剂和来自所述样品的与所述第一结合试剂和所述第二结合试剂二者结合的分子，任选地其中所述分子是抗体或包含抗体。在一些方面，所述BCMA抗体是靶抗体1。在一些方面，所述BCMA抗体是靶抗体2。在一些进一步的实施方案中，提供了使用所述结合试剂和阳性对照样品的说明书。

VI.定义

[0595] 除非另外定义，否则本文使用的所有领域术语、符号和其他技术和科学术语或命名旨在具有与所要求保护的主题所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。在一些情况下，为了清楚和/或为了便于参考而在本文中定义具有通常理解的含义的术语，并且本文中包含的此类定义不应被解释为表示与本领域通常理解的实质性差异。

[0596] 如本文所用，提及抗体的“相应形式”意指当比较两种抗体的特性或活性时，使用相同形式的抗体来比较特性。例如，如果声明抗体与第一抗体的相应形式的活性相比具有更高的活性，则意味着特定形式(如所述抗体的scFv)与第一抗体的scFv形式相比具有更高的活性。

[0597] 如本文所用，叙述核苷酸或氨基酸位置“对应于”所公开序列中的核苷酸或氨基酸位置(例如序列表中所示)是指，在使用标准比对算法(例如GAP算法)与所公开序列比对以使同一性最大化之后，所鉴定的核苷酸或氨基酸位置。通过比对序列，本领域技术人员可以例如使用保守和相同的氨基酸残基作为指导，鉴定相应的残基。一般来说，为了鉴定对应位置，将氨基酸序列比对以使得获得最高阶匹配(参见例如：Computational Molecular Biology,Lesk,A.M.编辑,Oxford University Press,New York,1988;Biocomputing: Informatics and Genome Projects,Smith,D.W.编辑,Academic Press,New York,1993; Computer Analysis of Sequence Data,Part I,Griffin,A.M.和Griffin,H.G.编辑, Humana Press,New.Jersey,1994;Sequence Analysis in Molecular Biology,von Heinje,G.,Academic Press,1987;以及Sequence Analysis Primer,Gribskov,M.和 Devereux,J.编辑,M Stockton Press,New York,1991;Carrillo等人(1988)SIAM J Applied Math 48:1073)。

[0598] “效应子功能”是指可归因于抗体Fc区的那些生物活性，其随抗体同种型的变化而变化。抗体效应子功能的例子包括：C1q结合和补体依赖性细胞毒性(CDC)；Fc受体结合；抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)；吞噬作用；细胞表面受体(例如，B细胞受体)的下调；和B细胞激活。

[0599] 本文中的术语“Fc区”用于定义免疫球蛋白重链的含有恒定区的至少一部分的C末端区。所述术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。在一个实施方案中，人IgG重链Fc区从Cys226或从Pro230延伸至重链的羧基末端。然而，Fc区的C末端赖氨酸(Lys447)可以存在或可以不存在。除非本文另有说明，否则Fc区或恒定区中氨基酸残基的编号是根据EU编号系统(也称为EU索引)，如Kabat等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991。

[0600] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文中可互换地使用以指代具有与天然抗体结构基本上类似的结构或具有含有如本文所定义的Fc区的重链的抗体。

[0601] “分离的”抗体是已经与其天然环境的组分分开的抗体。在一些实施方案中，如通过例如电泳(例如，SDS-PAGE、等电点聚焦(IEF)、毛细管电泳)或色谱(例如，离子交换或反相HPLC)确定的，将抗体纯化至大于95％或99％的纯度。关于评估抗体纯度的方法的综述，参见例如Flatman等人，J.Chromatogr.B 848:79-87(2007)。

[0602] “分离的”核酸是指已经与其天然环境的组分分开的核酸分子。分离的核酸包括细胞中含有的核酸分子，所述细胞通常含有所述核酸分子，但所述核酸分子存在于染色体外或存在于不同于其天然染色体位置的染色体位置。

[0603] “编码抗独特型抗体的分离的核酸”是指编码抗体重链和轻链(或其片段)的一种或多种核酸分子，包括在单个载体或单独载体中这样的一种或多种核酸分子、以及在宿主细胞中的一个或多个位置存在的这样的一种或多种核酸分子。

[0604] 术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用，并且是指已引入外源核酸的细胞，包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“转化细胞”，其包括原代转化细胞和源自其的后代，不考虑传代次数。后代的核酸含量可能与亲代细胞不完全相同，但可能含有突变。本文包括如在初始转化细胞中所筛选或选择的，具有相同功能或生物活性的突变体后代。

[0605] 如本文所用，在关于氨基酸序列(参考多肽序列)使用时，“氨基酸序列同一性百分比(％)”和“同一性百分比”定义为，在比对序列并在必要时引入空位以实现最大序列同一性百分比并且不将任何保守取代视作序列同一性的一部分之后，候选序列(例如，主题抗体或片段)中与参考多肽序列中的氨基酸残基相同的氨基酸残基的百分比。用于确定氨基酸序列同一性百分比的目的的比对可以以本领域熟知的多种方式来实现，例如，使用公众可获得的计算机软件，如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适当参数，包括为了在所比较的序列的全长上实现最大比对所需要的任何算法。

[0606] 氨基酸取代可以包括用另一种氨基酸替代多肽中的一个氨基酸。取代可以是保守氨基酸取代或非保守氨基酸取代。可以将氨基酸取代引入感兴趣的结合分子(例如抗体)、和针对所希望的活性(例如保留/改进的抗原结合、降低的免疫原性或改进的ADCC或CDC)筛选的产物中。

[0607] 通常可以根据以下常见的侧链特性将氨基酸进行分组：

(1)疏水性：正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

(2)中性亲水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

(3)酸性：Asp、Glu；

(4)碱性:His、Lys、Arg;

(5)影响链取向的残基:Gly、Pro;

(6)芳香族:Trp、Tyr、Phe。

[0608] 在一些实施方案中,保守取代可能涉及将这些类别之一的成员交换为同一类别的另一个成员。在一些实施方案中,非保守氨基酸取代可能涉及将这些类别之一的成员交换为另一个类别。

[0609] 如本文所用,术语“载体”是指能传播其所连接的另一核酸分子的核酸分子。所述术语包括作为自我复制核酸结构的载体以及掺入已引入其的宿主细胞基因组中的载体。某些载体能够指导它们可操作地连接的核酸的表达。此类载体在本文中称为“表达载体”。

[0610] 术语“包装说明书”用于指通常包括在治疗产品的商业包装中的说明书,所述说明书含有关于使用此类治疗产品的适应症、用法、剂量、施用、组合疗法、禁忌症和/或警告的信息。

[0611] 除非上下文明确指示其他含义,否则如本文所用的单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数指示物。例如,“一种/个(a或an)”意指“至少一种/个”或“一种/个或多种/个”。应理解,本文描述的方面和变化包括“由方面和变化组成”和/或“基本上由方面和变化组成”。

[0612] 贯穿本公开文本,所要求保护的主题的各个方面以范围形式呈现。应理解的是,范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁,并且不应该被解释为对所要求保护的主题的范围的不能转变的限制。因此,应该认为范围的描述具体公开了所有可能的子范围以及该范围内的单个数值。例如,在提供了值的范围的情况下,应理解,在该范围的上限和下限之间的每个中间值以及在所陈述范围内的任何其他所述或中间值涵盖在所要求保护的主题内。这些较小范围的上限和下限可以独立地被包括在该较小范围内,并且也涵盖在所要求保护的主题内,受制于在所陈述范围内任何确切排除的限制。在所陈述范围包括限制中的一者或两者的情况下,排除了那些包括的限制中的任一者或两者的范围也包括在所要求保护的主题内。无论范围的广度如何,这都适用。

[0613] 如本文所用的术语“约”是指本技术领域的技术人员容易知道的相应值的常用误差范围。本文中提及“约”某一值或参数时包括(并描述)涉及该值或参数本身的实施方案。例如,涉及“约X”的描述包括“X”的描述。

[0614] 术语“多肽”与“蛋白质”可互换使用以指代氨基酸残基的聚合物,并且不限于最小长度。多肽(包括所提供的抗体和抗体链以及其他肽(例如接头))可以包括含有天然和/或非天然氨基酸残基的氨基酸残基。所述术语还包括多肽的表达后修饰,例如糖基化、唾液酸化、乙酰化、磷酸化等。在一些方面,多肽可以含有关于自然或天然序列的修饰,只要蛋白质维持所需活性即可。这些修饰可能是故意的(例如通过定点诱变),或者可能是偶然的(例如通过产生所述蛋白质的宿主的突变或由于PCR扩增引起的错误)。

[0615] 如本文所用,组合物是指两种或更多种产物、物质或化合物(包括细胞)的任何混合物。其可以是溶液、悬浮液、液体、粉末、糊剂、水性、非水性或其任何组合。

[0616] 如本文所用,细胞或细胞群对特定标记物呈“阳性”的陈述是指特定标记物(通常为表面标记物)在细胞上或细胞中的可检测的存在。当提及表面标记物时,所述术语是指如通过流式细胞术检测到的,表面表达的存在,例如通过用与所述标记物结合(例如,与所述

标记物特异性地结合)的抗体进行染色并检测所述抗体,其中所述染色通过流式细胞术以如下水平是可检测的,所述水平基本上高于在其他方面相同的条件下用同种型匹配对照进行相同程序检测到的染色,和/或所述水平基本上与已知呈所述标记物阳性的细胞的水平相似,和/或所述水平基本上高于已知呈所述标记物阴性的细胞的水平。

[0617] 如本文所用,细胞或细胞群对特定标记物呈"阴性"的陈述是指特定标记物(通常为表面标记物)在细胞上或细胞中不存在实质上可检测的存在。当提及表面标记物时,所述术语是指如通过流式细胞术检测到的,表面表达的不存在,例如通过用与所述标记物结合(例如,与所述标记物特异性地结合)的抗体进行染色并检测所述抗体,其中所述染色通过流式细胞术以如下水平没有检测到,所述水平基本上高于在其他方面相同的条件下用同种型匹配对照进行相同程序检测到的染色,和/或所述水平基本上低于已知呈所述标记物阳性的细胞的水平,和/或所述水平与已知呈所述标记物阴性的细胞的水平相比是基本上相似的。

[0618] 如本文所使用的,声明抗独特型抗体或其抗原结合片段"结合或识别"一个或多个特定靶标(例如,靶抗体或其抗原结合片段)或一个或多个特定靶标的特定特征,例如,在一些实施方案中,靶抗体或其抗原结合片段的抗原结合结构域是指特异性地结合或特异性地识别一个或多个特定靶或一个或多个特定靶标的特定特征的抗独特型抗体或其抗原结合片段。出于本文的目的,"特异性地结合"或"特异性地识别"一个或多个特定靶标是指抗独特型抗体或其抗原结合片段特异性地结合或特异性地识别所述一个或多个特定靶标而不结合或识别其他靶标的能力,例如,与所述一个或多个特定靶标的结合与非特异性相互作用可测量地不同。

[0619] 术语"核酸分子"、"核酸"和"多核苷酸"可以互换使用,并且是指核苷酸的聚合物。核苷酸的此类聚合物可以含有天然和/或非天然核苷酸,并且包括但不限于DNA、RNA和PNA。"核酸序列"是指构成核酸分子或多核苷酸的核苷酸的线性序列。

VII.示例性实施方案

[0620] 所提供的实施方案包括:

1.一种与抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:74或104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75或105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76或106所示的氨基酸序列的CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:81或111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82或112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83或113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

2.一种与抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含分别含有SEQ ID NO:84或114的氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含分别含有SEQ ID NO:85或115的氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

3.一种与抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含与SEQ ID NO:84或114所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和

VL区,所述VL区包含与SEQ ID NO:85或115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

4.一种与抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:84或114所示的氨基酸序列的VH区;和

含有SEQ ID NO:85或115所示的氨基酸序列的VL区。

5.根据实施方案2-4中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:74或104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75或105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76或106所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:81或111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82或112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83或113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

6.根据实施方案1-3和5中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

所述VH区包含与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

7.根据实施方案1-6中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列并且所述VL区包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列;或

所述VH区包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列并且所述VL区包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。

8.根据实施方案1-7中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列的CDR-L3。

9.根据实施方案1-8中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列。

10.根据实施方案1-7中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:

105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

11.根据实施方案1-7和10中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。

12.根据实施方案1-11中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段与人BCMA结合。

13.根据实施方案1-12中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

14.根据实施方案13所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。

15.根据实施方案14所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。

16.根据实施方案15所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。

17.根据实施方案14-16中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的单链片段是单链可变片段(scFv),任选地其中所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

18.根据实施方案1-17中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段与如下表位结合,所述表位在所述靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。

19.根据实施方案1-18中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

20.根据实施方案17或实施方案18所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述scFv位于或被包括在CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在CAR的胞外部分内的scFv。

21.根据实施方案19或实施方案20所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域。

22.根据实施方案21所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述间隔子是免疫球蛋白间隔子,任选地其中所述间隔子包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

23.根据实施方案21或实施方案22所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述跨膜结构域包含CD28的跨膜部分,所述CD28任选地是人CD28。

24.根据实施方案21-23中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所

述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述CAR的间隔子结构域中的表位结合。

25.根据实施方案1-24中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合CD28或其部分,所述CD28任选地是人CD28。

26.根据实施方案1-25中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与Fc结构域中的表位结合,所述Fc结构域任选地是人IgG1Fc结构域。

27.根据实施方案1-26中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段特异性地结合。

28.根据实施方案1-27中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。

29.根据实施方案1-28中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与另一种抗BCMA抗体交叉反应,所述另一种抗BCMA抗体任选地被包含在另一种CAR的胞外抗原结合结构域中。

30.根据实施方案29所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述另一种抗BCMA抗体:

(i)包含VH区,所述VH区含有与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有小于90％序列同一性的氨基酸序列;和/或VL区,所述VL区含有与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有小于90％序列同一性的氨基酸;和/或

(ii)包含与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列具有小于90％序列同一性的scFv;和/或

(iii)包含具有1、2、3或4或更多个不同于SEQ ID NO:15所示的CDR-H1氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H1,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:16所示的CDR-H2氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H2,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:17所示的CDR-H3氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H3,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:22所示的CDR-L1氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L1,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:23所示的CDR-L2氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L2,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:24所示的CDR-L3氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L3;和/或

(iv)与人BCMA的表位结合,所述表位与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段所结合的人BCMA的表位不同。

31.根据实施方案1-30中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是包含所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的CAR的激动剂。

32.根据实施方案31所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在呈可溶形式时是CAR的激动剂;和/或

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在固定至支持物或固定相时是所述CAR的激

动剂,任选地其中所述支持物或固定相是板或珠。

33.根据实施方案1-32中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合不被人BCMA或人BCMA-Fc阻断。

36.一种与第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:28或52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29或53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30或54所示的氨基酸序列的CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:35或59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36或60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37或61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

37.一种与第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含分别含有SEQ ID NO:38或62的氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含分别含有SEQ ID NO:39或63的氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

38.一种与第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含与SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和

VL区,所述VL区包含与SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

39.一种与第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列的VH区;和

含有SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列的VL区。

40.根据实施方案37-39中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:28或52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29或53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30或54所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:35或59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36或60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37或61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

41.根据实施方案36、37和40中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;并且

所述VL区包含与SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

43.根据实施方案36-38、40和41中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列;并且

所述VL区包含SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列。

44.根据实施方案36-38、40和41中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

所述VH区包含与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

45.根据实施方案36-44中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;并且VL区包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列;或

所述VH区包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;并且所述VL区包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。

46.根据实施方案36-45中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-L3。

47.根据实施方案36-46中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列。

48.根据实施方案36-45中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

49.根据实施方案36-45和48中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述VH区包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列,并且所述VL区包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。

50.根据实施方案36-49中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段与人BCMA结合,并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段与人BCMA结合。

51.根据实施方案36-50中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区;并且

所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

52.根据实施方案51所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是第一单链片段,并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是第二单链片段。

53.根据实施方案52所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头,并且所述第二单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。

54.根据实施方案53所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一单链片段和/或所述第二单链片段的柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。

55.根据实施方案52-54中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第一单链片段是第一scFv,并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第二单链片段是第二scFv。

56.根据实施方案55所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,并且所述第二scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

57.根据实施方案36-56中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段与如下表位结合:

所述表位在所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分;以及

所述表位在所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。

58.根据实施方案36-57中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在第一CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在第一CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

59.根据实施方案36-58中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在第二CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在第二CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

60.根据实施方案36-57中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第一scFv位于或被包括在第一CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在第一CAR的胞外部分内的第一scFv。

61.根据实施方案36-57中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第二scFv位于或被包括在第二CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合被包含或被包括在第二CAR的胞外部分内的第二scFv。

62.根据实施方案58-61中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域,和/或所述第二CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域。

63.根据实施方案62所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR和/或所述第二CAR的间隔子是免疫球蛋白间隔子,任选地其中所述间隔子包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

64.根据实施方案62或实施方案63所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR和/或所述第二CAR的跨膜结构域包含CD28的跨膜部分,所述CD28任选地是人CD28。

65.根据实施方案62-64中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述第一CAR和/或所述第二CAR的间隔子结构域中的表位结合。

66.根据实施方案36-65中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合CD28或其部分,所述CD28任选地是人CD28。

67.根据实施方案36-66中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与Fc结构域中的表位结合,所述Fc结构域任选地是人IgG1Fc结构域。

68.根据实施方案36-67中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段特异性地结合。

69.根据实施方案36-68中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和/或所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。

70.根据实施方案36-69中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是包含所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第一CAR的激动剂,和/或是包含所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第二CAR的激动剂。

71.根据实施方案70所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在呈可溶形式时是所述第一CAR和/或所述

第二CAR的激动剂;和/或

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在固定至支持物或固定相时是所述第一CAR和/或所述第二CAR的激动剂,任选地其中所述支持物或固定相是板或珠。

72.根据实施方案36-71中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和/或所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合不被人BCMA或人BCMA-Fc阻断。

73.根据实施方案1-72中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含重链和/或轻链的免疫球蛋白恒定区的至少一部分。

74.根据实施方案73所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含重链恒定区,所述重链恒定区含有Fc区或所述Fc的包含所述CH2和CH3结构域的部分;和/或含有CL结构域的轻链恒定区。

75.根据实施方案73或实施方案74所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述恒定区源自IgG,任选IgG1。

76.根据实施方案74或实施方案75所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链恒定区来自κ轻链。

77.根据实施方案1-76中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是完整抗体或全长抗体。

78.根据实施方案1-35和73-77中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

79.根据实施方案1-35和73-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的轻链;或

含有SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的轻链。

80.根据实施方案1-9、12-35和73-79中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的轻链。

81.根据实施方案1-7、10-35和73-79中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的轻链。

82.根据实施方案36-77中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

重链,所述重链包含与SEQ ID NO:40或64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和

轻链,所述轻链包含与SEQ ID NO:41或65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

83.根据实施方案36-77和82中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

84.根据实施方案36-77、82和83中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:40或64所示的氨基酸序列的重链;和

含有SEQ ID NO:41或65所示的氨基酸序列的轻链。

85.根据实施方案36-77和82-84中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的轻链;或

含有SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的轻链。

86.根据实施方案36-47、50-77和82-85中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的轻链。

87.根据实施方案36-45、48-77和82-85中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的轻链。

88.根据实施方案1-76中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是抗原结合片段。

89.根据实施方案88的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段选自Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fab'片段、Fv片段、scFv片段和单结构域抗体。

90.根据实施方案1-89中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是人源化的。

91.根据实施方案1-90中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗

独特型抗体或其抗原结合片段是重组的。

92.根据实施方案1-91中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是单克隆的。

93.一种缀合物,所述缀合物包含根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或抗原结合片段以及异源分子或部分。

94.根据实施方案93所述的缀合物,其中所述异源分子或部分是标记。

95.根据实施方案94所述的缀合物,其中所述标记选自荧光染料、荧光蛋白、放射性同位素、发色团、金属离子、金颗粒、银颗粒、磁性颗粒、多肽、酶、链霉亲和素、生物素、发光化合物或寡核苷酸。

96.根据实施方案94所述的缀合物,其中所述异源分子或部分是蛋白质、肽、核酸或小分子,其任选地是或包含毒素或Strep-Tag。

97.一种编码根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段的重链和/或轻链的核酸分子。

98.根据实施方案97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:62所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:63所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

99.根据实施方案97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:84所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:85所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

100.根据实施方案97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:114所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:114所示的核苷酸的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:115所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

101.根据实施方案97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:38所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:38所示的核苷酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:39所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

102.根据实施方案97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:64所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:65所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

103.根据实施方案97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:86所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:87所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

104.根据实施方案97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:116所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:117所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

105.根据实施方案97所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:40所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:40所示的核苷酸序列具有至少90％序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:41所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:41所示的核苷酸序列具有至少90％序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

106.根据实施方案97-105中任一项所述的核酸分子,其中编码所述重链和/或轻链的核苷酸序列包含信号序列。

107.根据实施方案97-106中任一项所述的核酸分子,其中所述核酸分子包含选自SEQ ID NO:42、43、48、49、66-69、88-91和118-121的一种或多种核苷酸序列。

108.一种载体,所述载体包含根据实施方案97-107中任一项所述的核酸分子。

109.一种细胞,所述细胞包含根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据实施方案97-107中任一项所述的核酸分子或根据实施方案108所述的载体。

110.一种产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在合适的宿主细胞中表达由根据实施方案97-107中任一项所述的核酸分子或根据实施方案108所述的载体编码的所述重链和/或轻链以及回收或分离所述抗体。

111.一种产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在表达所述重链和/或轻链的条件下培养根据实施方案109所述的细胞以及回收或分离所述抗体。

112.一种通过根据实施方案110或实施方案111所述的方法产生的抗独特型抗体或其抗原结合片段。

113.一种组合物,所述组合物包含根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物或根据实施方案109所述的细胞。

114.根据实施方案113所述的组合物,所述组合物进一步包含药学上可接受的赋形剂。

115.一种试剂盒,所述试剂盒包含根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物、根据实施方案97-107中任一项所述的核酸分子以及任选的使用说明书。

116.根据实施方案115所述的试剂盒,所述试剂盒进一步包含用于固定所述抗独特型抗体或其抗原结合片段或所述缀合物的试剂或支持物,其中所述试剂或支持物是珠、柱、微孔、棒、过滤器、条带或可溶性寡聚链霉亲和素突变蛋白试剂。

117.一种检测靶抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括:

(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)检测与所述靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体。

118.根据实施方案117所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段与细胞结合或在细胞的表面上表达,并且(b)中的检测包括检测与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

119.根据实施方案118所述的方法,其中所述细胞在其表面上表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR。

120.一种检测包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的方法,所述方法包括:

(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)检测与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

121.根据实施方案120所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被直接或间接标记以用于检测。

122.一种从细胞群体选择细胞的方法,所述方法包括:

(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞群体或与靶抗体或其抗原结合片段结合的细胞与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)选择与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

123.根据实施方案122所述的方法,其中通过基于亲和力的分离来选择与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

124.根据实施方案123所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。

125.根据实施方案123或实施方案124所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是通过流式细胞术进行的。

126.根据实施方案123或实施方案124所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是通过磁激活细胞分选进行的。

127.根据实施方案123或实施方案124所述的方法,其中所述基于亲和力的分离包括亲和色谱法。

128.根据实施方案126或实施方案127所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆地结合或固定至支持物或固定相。

129.一种刺激细胞的方法,所述方法包括将包含表达含有靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞的输入组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物一起孵育,从而产生包含刺激的细胞的输出组合物。

130.一种产生细胞组合物的方法,所述方法包括:

(a)将编码CAR的一种或多种核酸分子引入细胞中,从而产生输入组合物;以及

(b)将所述输入组合物与特异性地结合所述CAR的抗原受体的根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物一起孵育,从而产生所述细胞组合物。

131.根据实施方案130所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过病毒转导、转座、电穿孔或化学转染将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

132.根据实施方案130或实施方案131所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过用包含所述一种或多种核酸分子的病毒载体转导将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中,任选地其中所述病毒载体是逆转录病毒载体或慢病毒载体。

133.根据实施方案130或实施方案131所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过用包含所述一种或多种核酸分子的转座子转座将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

134.根据实施方案130或实施方案131所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过包含所述一种或多种核酸分子的载体的电穿孔或转染将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

135.根据实施方案130-134中任一项所述的方法,所述方法进一步包括在步骤(a)之前激活所述细胞的步骤。

136.根据实施方案135所述的方法,其中激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与CD3的激动剂和任选的CD28的激动剂接触。

137.根据实施方案136所述的方法,其中激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与包含激动性抗CD3和抗CD28抗体的试剂接触。

138.根据实施方案130-137中任一项所述的方法,其中所述孵育在所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述CAR结合的条件下进行,从而诱导或调节所述输入组合物中的一个或多个细胞中的信号。

139.根据实施方案130-138中任一项所述的方法,其中所述细胞包含T细胞。

140.根据实施方案139所述的方法,其中所述T细胞包含CD4+和/或CD8+T细胞。

141.根据实施方案130-140中任一项所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至固体支持物,所述固体支持物任选地包含含有能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点的试剂或与所述试剂缀合。

142.根据实施方案130-140中任一项所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至可溶性试剂,所述可溶性试剂任选地是或包含能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点。

143.根据实施方案141或实施方案142所述的方法,其中所述试剂包含链霉亲和素突变蛋白。

144.根据实施方案130-143中任一项所述的方法,其中所述孵育持续至少或约至少5分钟、10分钟、30分钟、60分钟、2小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或96小时。

145.根据实施方案130-144中任一项所述的方法,其中所述输入组合物包含作为所述组合物中总细胞的百分比的小于或小于约60%、小于或小于约50%、小于或小于约40%、小于或小于约30%、小于或小于约20%或小于或小于约10%的CAR表达细胞。

146.根据实施方案130-145中任一项所述的方法,其中:

与所述输入组合物中CAR表达细胞的数量相比,所述输出组合物中CAR表达细胞的数量增加大于1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍或更多;和/或

与所述输出组合物中的总细胞相比,所述组合物中CAR表达细胞的百分比增加大于10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%或更多。

147.根据实施方案130-146中任一项所述的方法,其中在所述引入和/或孵育之前,所述细胞未针对所述CAR表达细胞进行选择或富集。

148.一种纯化抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括:

(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与特异性地结合靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)分离包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。

149.根据实施方案148所述的方法,其中包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物通过基于亲和力的分离来分离。

150.根据实施方案149所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。

151.根据实施方案150所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是基于磁性的分离。

152.根据实施方案150所述的方法,其中所述基于亲和力的分离包括亲和色谱法。

153.一种耗尽细胞的方法,所述方法包括向受试者施用组合物,所述组合物包含特异性地结合靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物,其中所述受试者已被施用了表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞。

154.根据实施方案153所述的方法,其中所述耗尽经由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)发生。

155.根据实施方案117-154中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是单链抗体片段。

156.根据实施方案155所述的方法,其中所述单链片段包含scFv。

157.根据实施方案117-156中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。

158.根据实施方案157所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

159.根据实施方案158所述的方法,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列,并且所述scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

160.根据实施方案117-156中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

161.根据实施方案160所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

162.根据实施方案161所述的方法,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列,并且所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

163.一种制品,所述制品包含根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物、以及使用所述抗独特型抗体或其抗原结合片段用于如下用途的说明书:

检测靶抗体或其抗原结合片段或包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR;和/或从细胞群体选择或富集表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的工程化细胞;和/或

刺激输入组合物,所述输入组合物包含表达含有所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞。

164.一种制品,所述制品包含:

结合试剂,所述结合试剂含有包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的胞外结构域,所述胞外结构域或其部分包含所述靶抗体或其抗原结合片段;以及

根据实施方案1-92中任一项所述的抗独特型抗体或抗原结合片段或根据实施方案93-96中任一项所述的缀合物。

165.根据实施方案164所述的制品,其中所述结合试剂是第一结合试剂,并且所述制品进一步包含第二结合试剂,所述第二结合试剂含有所述CAR的胞外结构域或其部分。

166.根据实施方案164或实施方案165所述的制品,其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂的CAR的胞外结构域或其部分是相同的。

167.根据实施方案164-166中任一项所述的制品,所述制品进一步包含使用所述结合试剂(任选所述第一结合试剂和所述第二结合试剂)用于利用免疫测定来测定样品中与所述结合试剂结合的分子的存在或不存在的说明书,任选地其中所述免疫测定是桥式或夹心免疫测定,任选地其中所述样品来自已施用了细胞疗法的受试者,所述细胞疗法包含用含有靶抗体的CAR工程化的细胞,所述靶抗体是或其抗原结合片段。

168.根据实施方案164-167中任一项所述的制品,其中所述结合试剂(任选所述第一结合试剂和/或所述第二结合试剂)被可检测地标记或能够产生可检测信号。

169.根据实施方案165-168中任一项所述的制品,其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂之一被附接至固体支持物或能够被附接至固体支持物,并且所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的另一者是可检测标记或能够产生可检测信号。

170.根据实施方案169所述的制品,其中所述制品进一步包含固体支持物,任选地其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂之一直接或间接与生物素连接,并且所述固体

支持物包括链霉亲和素包被的表面。

171.根据实施方案163-170中任一项所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。

172.根据实施方案171所述的制品,其中所述单链片段包含scFv。

173.根据实施方案163-172中任一项所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。

174.根据实施方案173所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

175.根据实施方案174所述的制品,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列,并且所述scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

176.根据实施方案163-172中任一项所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

177.根据实施方案176所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

178.根据实施方案177所述的制品,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列,并且所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

[0621] 所提供的实施方案包括:

1.一种结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:84或114所示的氨基酸序列的VH区;和

含有SEQ ID NO:85或115所示的氨基酸序列的VL区。

2.一种结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含与SEQ ID NO:84或114所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和

VL区,所述VL区包含与SEQ ID NO:85或115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

3.一种结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含含有SEQ ID NO:74或104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75或105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76或106所示的氨基酸序列的CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含含有SEQ ID NO:81或111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82或112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83或113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

4.一种结合或识别抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含:

VH区,所述VH区包含分别含有SEQ ID NO:84或114的氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3;和

VL区,所述VL区包含分别含有SEQ ID NO:85或115的氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

5.根据实施方案1、2和4中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:74或104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75或105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76或106所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:81或111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82或112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83或113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

6.根据实施方案1、2、4和5中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列的CDR-L3。

7.根据实施方案1-5中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列的CDR-L3。

8.根据实施方案3-7中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

所述VH区包含与SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

9.根据实施方案1-8中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列并且所述VL区包含SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列;或

所述VH区包含SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列并且所述VL区包含SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列。

10.根据实施方案1-9中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

重链,所述重链含有与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和轻链,所述轻链含有与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

11.根据实施方案1-10中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

含有SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列的轻链;或

含有SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列的重链;和含有SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列的轻链。

12.根据实施方案1-11中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

13.根据实施方案12所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。

14.根据实施方案13所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。

15.根据实施方案14所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。

16.根据实施方案13-15中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的单链片段是单链可变片段(scFv),任选地其中所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

17.根据实施方案1-16中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合或识别如下表位,所述表位在所述靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。

18.根据实施方案1-17中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

19.根据实施方案16-17中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述scFv位于或被包括在CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在CAR的胞外部分内的scFv。

20.根据实施方案18或实施方案19所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域。

21.根据实施方案20所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述间隔子是免疫球蛋白间隔子,任选地其中所述间隔子包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

22.根据实施方案20或实施方案21所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述跨膜结构域包含CD28的跨膜部分,所述CD28任选地是人CD28。

23.根据实施方案20-22中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述CAR的间隔子结构域中的表位结合。

24.根据实施方案1-23中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合CD28或其部分,所述CD28任选地是人CD28。

25.根据实施方案1-24中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与Fc结构域中的表位结合,所述Fc结构域任选地是人IgG1Fc结构域。

26.根据实施方案1-25中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合或识别人BCMA。

27.根据实施方案1-26中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与另一种抗BCMA抗体交叉反应,所述另一种抗BCMA抗体任选地被包含在另一种CAR的胞外抗原结合结构域中。

28.根据实施方案27所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述另一种抗BCMA抗体:

(i)包含VH区,所述VH区含有与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的氨基酸序列;和/或VL区,所述VL区含有与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的氨基酸;和/或

(ii)包含与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列具有小于90%序列同一性的scFv;和/或

(iii)包含具有1、2、3或4或更多个不同于SEQ ID NO:15所示的CDR-H1氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H1,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:16所示的CDR-H2氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H2,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:17所示的CDR-H3氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-H3,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:22所示的CDR-L1氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L1,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:23所示的CDR-L2氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L2,和/或具有1、2、3或4个或更多个不同于SEQ ID NO:24所示的CDR-L3氨基酸序列的氨基酸残基的CDR-L3;和/或

(iv)结合或识别人BCMA的表位,所述表位与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段所结合或识别的人BCMA的表位不同。

29.根据实施方案1-28中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是包含所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的CAR的激动剂。

30.根据实施方案29所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在呈可溶形式时是CAR的激动剂;和/或

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在固定至支持物或固定相时是所述CAR的激动剂,任选地其中所述支持物或固定相是板或珠。

31.根据实施方案1-30中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合亲和力(EC50)和/或解离常

数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。

32.根据实施方案1-31中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合不被人BCMA或人BCMA-Fc阻断。

33.一种结合或识别第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含：

含有SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列的VH区；和

含有SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列的VL区。

34.一种结合或识别第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含：

VH区，所述VH区包含与SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列；和

VL区，所述VL区包含与SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列。

35.一种结合或识别第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含：

VH区，所述VH区包含含有SEQ ID NO:28或52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29或53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30或54所示的氨基酸序列的CDR-H3；和

VL区，所述VL区包含含有SEQ ID NO:35或59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36或60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37或61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

36.一种结合或识别第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段包含：

VH区，所述VH区包含分别含有SEQ ID NO:38或62的氨基酸序列中所含的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3氨基酸序列的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3；和

VL区，所述VL区包含分别含有SEQ ID NO:39或63的氨基酸序列中所含的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3氨基酸序列的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3。

37.根据实施方案33、34和36中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中：

所述VH区包含含有SEQ ID NO:28或52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29或53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30或54所示的氨基酸序列的CDR-H3；并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:35或59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID

NO:36或60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37或61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

38.根据实施方案33-37中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列的CDR-L3。

39.根据实施方案33-37中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含含有SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列的CDR-H1、含有SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列的CDR-H2、和含有SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列的CDR-H3;并且

所述VL区包含含有SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列的CDR-L1、含有SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列的CDR-L2、和含有SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列的CDR-L3。

40.根据实施方案35-39中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;并且

所述VL区包含与SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

41.根据实施方案35-40中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含与SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;或

所述VH区包含与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列,并且所述VL区包含与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

42.根据实施方案34-41中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:38或62所示的氨基酸序列;并且

所述VL区包含SEQ ID NO:39或63所示的氨基酸序列。

43.根据实施方案34-42中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述VH区包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;并且VL区包含SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列;或

所述VH区包含SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;并且所述VL区包含SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列。

44.根据实施方案33-43中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含:

重链,所述重链包含与SEQ ID NO:40或64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列;和

轻链,所述轻链包含与SEQ ID NO:41或65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的氨基酸序列。

45.根据实施方案33-44中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所

述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含：

重链，所述重链含有与SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列；和轻链，所述轻链含有与SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列；或

重链，所述重链含有与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列；和轻链，所述轻链含有与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90％序列同一性的氨基酸序列。

46.根据实施方案33-45中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含：

含有SEQ ID NO:40或64所示的氨基酸序列的重链；和

含有SEQ ID NO:41或65所示的氨基酸序列的轻链。

47.根据实施方案33-46中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含：

含有SEQ ID NO:40所示的氨基酸序列的重链和含有SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列的轻链；或

含有SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列的重链；和含有SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列的轻链。

48.根据实施方案33-47中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中：

所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区；并且

所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

49.根据实施方案48所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是第一单链片段，并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段是第二单链片段。

50.根据实施方案49所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述第一单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头，并且所述第二单链片段包含位于所述VH区与所述VL区之间的柔性接头。

51.根据实施方案50所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述第一单链片段和/或所述第二单链片段的柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列。

52.根据实施方案49-51中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第一单链片段是第一scFv，并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第二单链片段是第二scFv。

53.根据实施方案52所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述第一scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列，并且所述第二scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

54.根据实施方案33-53中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段，其中所述抗独特型抗体或抗原结合片段结合或识别如下表位：

所述表位在所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全

部或一部分;以及

所述表位在所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段的CDR内或包括所述CDR的全部或一部分。

55.根据实施方案33-54中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在第一CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在第一CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的第一抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

56.根据实施方案33-55中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段位于或被包括在第二CAR的胞外部分的抗原结合结构域内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在第二CAR的胞外部分的抗原结合结构域内的第二抗BCMA靶抗体或抗原结合片段。

57.根据实施方案33-54中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第一scFv位于或被包括在第一CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在第一CAR的胞外部分内的第一scFv。

58.根据实施方案33-54中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述第二scFv位于或被包括在第二CAR的胞外部分内;和/或

所述抗独特型抗体或抗原结合片段特异性地结合被包含或被包括在第二CAR的胞外部分内的第二scFv。

59.根据实施方案55-58中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域,和/或所述第二CAR进一步包含经由间隔子与所述抗原结合结构域连接的跨膜结构域。

60.根据实施方案59所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR和/或所述第二CAR的间隔子是免疫球蛋白间隔子,任选地其中所述间隔子包含SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列。

61.根据实施方案59或实施方案60所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一CAR和/或所述第二CAR的跨膜结构域包含CD28的跨膜部分,所述CD28任选地是人CD28。

62.根据实施方案59-61中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与所述第一CAR和/或所述第二CAR的间隔子结构域中的表位结合。

63.根据实施方案33-62中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不结合或不特异性地结合CD28或其部分,所述CD28任选地是人CD28。

64.根据实施方案33-63中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段不与Fc结构域中的表位结合,所述Fc结构域任选地是人IgG1Fc结构域。

65.根据实施方案33-64中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合或识别人BCMA,并且所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段结合或识别人BCMA。

66.根据实施方案33-65中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是包含所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第一CAR的激动剂,和/或是包含所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的第二CAR的激动剂。

67.根据实施方案66所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中:

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在呈可溶形式时是所述第一CAR和/或所述第二CAR的激动剂;和/或

所述抗独特型抗体或其抗原结合片段在固定至支持物或固定相时是所述第一CAR和/或所述第二CAR的激动剂,任选地其中所述支持物或固定相是板或珠。

68.根据实施方案33-67中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和/或所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合亲和力(EC50)和/或解离常数是为或约或小于或小于约100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、14nM、13nM、12nM、11nM、10nM、9nM、8nM、7nM、6nM、5nM、4nM、3nM、2nM或1nM。

69.根据实施方案33-68中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述第一抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段和/或所述第二抗BCMA靶抗体或其抗原结合片段的结合不被人BCMA或人BCMA-Fc阻断。

70.根据实施方案1-69中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是人源化的。

71.根据实施方案1-70中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是重组的。

72.根据实施方案1-71中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是单克隆的。

73.根据实施方案1-72中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是抗原结合片段。

74.根据实施方案73的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述抗原结合片段选自Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fab'片段、Fv片段、scFv片段和单结构域抗体。

75.根据实施方案1-74中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段包含免疫球蛋白恒定区的至少一部分。

76.根据实施方案75所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中免疫球蛋白恒定区的至少一部分包含Fc区或所述Fc的包含所述CH2和CH3结构域的一部分。

77.根据实施方案75或实施方案76所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,其中所述恒定区源自人IgG。

78.根据实施方案75-77中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段,所述抗独特型抗体或其抗原结合片段是完整抗体或全长抗体。

79.一种缀合物,所述缀合物包含根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗

体或抗原结合片段以及异源分子或部分。

80.根据实施方案79所述的缀合物,其中所述异源分子或部分是标记。

81.根据实施方案80所述的缀合物,其中所述标记选自荧光染料、荧光蛋白、放射性同位素、发色团、金属离子、金颗粒、银颗粒、磁性颗粒、多肽、酶、链霉亲和素、生物素、发光化合物或寡核苷酸。

82.根据实施方案80所述的缀合物,其中所述异源分子或部分是蛋白质、肽、核酸或小分子,其任选地是或包含毒素或Strep-Tag。

83.一种编码根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段的重链和/或轻链的核酸分子。

84.根据实施方案83所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:62所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:63所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:63所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

85.根据实施方案83所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:84所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:85所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

86.根据实施方案83所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:114所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:114所示的核苷酸的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:115所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

87.根据实施方案83所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:38所示的重链可变区、(ii)与SEQ ID NO:38所示的核苷酸序列具有至少90%序列同一性的重链可变区、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:39所示的轻链可变区、(v)与SEQ ID NO:39所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链可变区、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

88.根据实施方案83所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:64所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:64所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:65所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

89.根据实施方案83所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:86所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:87所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

90.根据实施方案83所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:116所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:116所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:117所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:117所示的氨基酸序列具有至少90%序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

91.根据实施方案83所述的核酸分子,所述核酸分子包含:

编码(i)SEQ ID NO:40所示的重链、(ii)与SEQ ID NO:40所示的核苷酸序列具有至少90%序列同一性的重链、或者(iii)(i)或(ii)的简并序列的核苷酸序列;以及

编码(iv)SEQ ID NO:41所示的轻链、(v)与SEQ ID NO:41所示的核苷酸序列具有至少90%序列同一性的轻链、或者(vi)(iv)或(v)的简并序列的核苷酸序列。

92.根据实施方案83-91中任一项所述的核酸分子,其中编码所述重链和/或轻链的核苷酸序列包含信号序列。

93.根据实施方案83-92中任一项所述的核酸分子,其中所述核酸分子包含选自SEQ ID NO:42、43、48、49、66-69、88-91和118-121的一种或多种核苷酸序列。

94.一种载体,所述载体包含根据实施方案83-93中任一项所述的核酸分子。

95.一种细胞,所述细胞包含根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据实施方案83-93中任一项所述的核酸分子或根据实施方案94所述的载体。

96.一种产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在合适的宿主细胞中表达由根据实施方案83-93中任一项所述的核酸分子或根据实施方案94所述的载体编码的所述重链和/或轻链以及回收或分离所述抗体。

97.一种产生抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在表达所述重链和/或轻链的条件下培养根据实施方案95所述的细胞以及回收或分离所述抗体。

98.一种通过根据实施方案96或实施方案97所述的方法产生的抗独特型抗体或其抗原结合片段。

99.一种组合物,所述组合物包含根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物或根据实施方案95所述的细胞。

100.根据实施方案99所述的组合物,所述组合物进一步包含药学上可接受的赋形剂。

101.一种试剂盒,所述试剂盒包含根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物、根据实施方案83-93中任一项所述的核酸分子以及任选的使用说明书。

102.根据实施方案101所述的试剂盒,所述试剂盒进一步包含用于固定所述抗独

特型抗体或其抗原结合片段或所述缀合物的试剂或支持物，其中所述试剂或支持物是珠、柱、微孔、棒、过滤器、条带或可溶性寡聚链霉亲和素突变蛋白试剂。

103.一种检测靶抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括：

(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物接触；以及

(b)检测与所述靶抗体或其抗原结合片段结合的抗独特型抗体。

104.根据实施方案103所述的方法，其中所述靶抗体或其抗原结合片段与细胞结合或在细胞的表面上表达，并且(b)中的检测包括检测与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

105.根据实施方案104所述的方法，其中所述细胞在其表面上表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR。

106.一种检测包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的方法，所述方法包括：

(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物接触；以及

(b)检测与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

107.根据实施方案106所述的方法，其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被直接或间接标记以用于检测。

108.一种从细胞群体选择细胞的方法，所述方法包括：

(a)使表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞群体或与靶抗体或其抗原结合片段结合的细胞与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物接触；以及

(b)选择与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

109.根据实施方案108所述的方法，其中通过基于亲和力的分离来选择与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段结合的细胞。

110.根据实施方案109所述的方法，其中所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。

111.根据实施方案109或实施方案110所述的方法，其中所述基于亲和力的分离是通过流式细胞术进行的。

112.根据实施方案109或实施方案110所述的方法，其中所述基于亲和力的分离是通过磁激活细胞分选进行的。

113.根据实施方案109或实施方案110所述的方法，其中所述基于亲和力的分离包括亲和色谱法。

114.根据实施方案112或实施方案113所述的方法，其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆地结合或固定至支持物或固定相。

115.一种刺激细胞的方法，所述方法包括将包含表达含有靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞的输入组合物与特异性地结合所述靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方

案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物一起孵育,从而产生包含刺激的细胞的输出组合物。

116.一种产生细胞组合物的方法,所述方法包括:

(a)将编码CAR的一种或多种核酸分子引入细胞中,从而产生输入组合物;以及

(b)将所述输入组合物与特异性地结合所述CAR的抗原受体的根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物一起孵育,从而产生所述细胞组合物。

117.根据实施方案116所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过病毒转导、转座、电穿孔或化学转染将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

118.根据实施方案116或实施方案117所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过用包含所述一种或多种核酸分子的病毒载体转导将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中,任选地其中所述病毒载体是逆转录病毒载体或慢病毒载体。

119.根据实施方案116或实施方案117所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过用包含所述一种或多种核酸分子的转座子转座将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

120.根据实施方案116或实施方案117所述的方法,其中(a)中的所述引入包括通过包含所述一种或多种核酸分子的载体的电穿孔或转染将所述一种或多种核酸分子引入所述细胞中。

121.根据实施方案116-120中任一项所述的方法,所述方法进一步包括在步骤(a)之前激活所述细胞的步骤。

122.根据实施方案121所述的方法,其中激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与CD3的激动剂和任选的CD28的激动剂接触。

123.根据实施方案122所述的方法,其中激活所述细胞的步骤包括使所述细胞与包含激动性抗CD3和抗CD28抗体的试剂接触。

124.根据实施方案116-123中任一项所述的方法,其中所述孵育在所述抗独特型抗体或其抗原结合片段与所述CAR结合的条件下进行,从而诱导或调节所述输入组合物中的一个或多个细胞中的信号。

125.根据实施方案116-124中任一项所述的方法,其中所述细胞包含T细胞。

126.根据实施方案125所述的方法,其中所述T细胞包含CD4+和/或CD8+T细胞。

127.根据实施方案116-126中任一项所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至固体支持物,所述固体支持物任选地包含含有能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点的试剂或与所述试剂缀合。

128.根据实施方案116-126中任一项所述的方法,其中所述抗独特型抗体或其抗原结合片段被固定至可溶性试剂,所述可溶性试剂任选地是或包含能够与所述抗独特型抗体或其抗原结合片段可逆结合的多个结合位点。

129.根据实施方案127或实施方案128所述的方法,其中所述试剂包含链霉亲和素突变蛋白。

130.根据实施方案116-129中任一项所述的方法,其中所述孵育持续至少或约至少5分钟、10分钟、30分钟、60分钟、2小时、6小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或

96小时。

131.根据实施方案116-130中任一项所述的方法,其中所述输入组合物包含作为所述组合物中总细胞的百分比的小于或小于约60%、小于或小于约50%、小于或小于约40%、小于或小于约30%、小于或小于约20%或小于或小于约10%的CAR表达细胞。

132.根据实施方案116-131中任一项所述的方法,其中:

与所述输入组合物中CAR表达细胞的数量相比,所述输出组合物中CAR表达细胞的数量增加大于1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍或更多;和/或

与所述输出组合物中的总细胞相比,所述组合物中CAR表达细胞的百分比增加大于10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%或更多。

133.根据实施方案116-132中任一项所述的方法,其中在所述引入和/或孵育之前,所述细胞未针对所述CAR表达细胞进行选择或富集。

134.一种纯化抗独特型抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括:

(a)使包含靶抗体或其抗原结合片段的组合物与特异性地结合靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物接触;以及

(b)分离包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物。

135.根据实施方案134所述的方法,其中包含所述抗独特型抗体或其抗原结合片段的复合物通过基于亲和力的分离来分离。

136.根据实施方案135所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是基于免疫亲和力的分离。

137.根据实施方案136所述的方法,其中所述基于亲和力的分离是基于磁性的分离。

138.根据实施方案136所述的方法,其中所述基于亲和力的分离包括亲和色谱法。

139.一种耗尽细胞的方法,所述方法包括向受试者施用组合物,所述组合物包含特异性地结合靶抗体或其抗原结合片段的根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物,其中所述受试者已被施用了表达包含所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞。

140.根据实施方案139所述的方法,其中所述耗尽经由抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)发生。

141.根据实施方案103-140中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是单链抗体片段。

142.根据实施方案141所述的方法,其中所述单链片段包含scFv。

143.根据实施方案103-142中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。

144.根据实施方案143所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

145.根据实施方案144所述的方法,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列,并且所述scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

146.根据实施方案103-142中任一项所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

147.根据实施方案146所述的方法,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv,并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

148.根据实施方案147所述的方法,其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列,并且所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

149.一种制品,所述制品包含根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或其抗原结合片段、或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物、以及使用所述抗独特型抗体或其抗原结合片段用于如下用途的说明书:

检测靶抗体或其抗原结合片段或包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR;和/或从细胞群体选择或富集表达包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的工程化细胞;和/或

刺激输入组合物,所述输入组合物包含表达含有所述靶抗体或其抗原结合片段的CAR的细胞。

150.一种制品,所述制品包含:

结合试剂,所述结合试剂含有包含靶抗体或其抗原结合片段的CAR的胞外结构域,所述胞外结构域或其部分包含所述靶抗体或其抗原结合片段;以及

根据实施方案1-78中任一项所述的抗独特型抗体或抗原结合片段或根据实施方案79-82中任一项所述的缀合物。

151.根据实施方案150所述的制品,其中所述结合试剂是第一结合试剂,并且所述制品进一步包含第二结合试剂,所述第二结合试剂含有所述CAR的胞外结构域或其部分。

152.根据实施方案150或实施方案151所述的制品,其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂的CAR的胞外结构域或其部分是相同的。

153.根据实施方案150-152中任一项所述的制品,所述制品进一步包含使用所述结合试剂(任选所述第一结合试剂和所述第二结合试剂)用于利用免疫测定来测定样品中与所述结合试剂结合的分子的存在或不存在的说明书,任选地其中所述免疫测定是桥式或夹心免疫测定,任选地其中所述样品来自已施用了细胞疗法的受试者,所述细胞疗法包含用含有靶抗体的CAR工程化的细胞,所述靶抗体是或其抗原结合片段。

154.根据实施方案150-153中任一项所述的制品,其中所述结合试剂(任选所述第一结合试剂和/或所述第二结合试剂)被可检测地标记或能够产生可检测信号。

155.根据实施方案151-154中任一项所述的制品,其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂之一被附接至固体支持物或能够被附接至固体支持物,并且所述第一结合试剂和所述第二结合试剂中的另一者是可检测标记或能够产生可检测信号。

156.根据实施方案155所述的制品,其中所述制品进一步包含固体支持物,任选地其中所述第一结合试剂和所述第二结合试剂之一直接或间接与生物素连接,并且所述固体支持物包括链霉亲和素包被的表面。

157.根据实施方案149-156中任一项所述的制品,其中所述靶抗体或其抗原结合片段是单链片段。

158.根据实施方案157所述的制品,其中所述单链片段包含scFv。

159.根据实施方案149-158中任一项所述的制品，其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的VL区。

160.根据实施方案159所述的制品，其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv，并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

161.根据实施方案160所述的制品，其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列，并且所述scFv包含SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列。

162.根据实施方案149-158中任一项所述的制品，其中所述靶抗体或其抗原结合片段包含含有SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列的VH区和含有SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列的VL区。

163.根据实施方案162所述的制品，其中所述靶抗体或其抗原结合片段是scFv，并且所述VH区和所述VL区通过柔性接头连接。

164.根据实施方案163所述的制品，其中所述柔性接头包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列，并且所述scFv包含SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列。

VIII.实施例

[0622] 以下实施例被包括在内仅用于说明目的，并不旨在限制本发明的范围。

实施例1:针对抗BCMA嵌合抗原受体的抗独特型抗体的产生和评估

[0623] 产生并评估了识别两个示例性抗BCMA嵌合抗原受体(CAR)中的一个或两个的scFv部分的抗独特型抗体。产生的示例性抗独特型抗体的氨基酸序列(SEQ ID NO)列于表E1中。这包括抗体克隆10、15、16和19。

表E1.示例性抗独特型抗体克隆的示例性氨基酸序列(SEQ ID NO)

| | | | | | Kabat | | Chothia | | AbM | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 克隆ID | VH | VL | 重链 | 轻链 | CDR-H1<br>H2<br>H3 | CDR-L1<br>L2<br>L3 | CDR-H1<br>H2<br>H3 | CDR-L1<br>L2<br>L3 | CDR-H1<br>H2<br>H3 | CDR-L1<br>L2<br>L3 |
| 10 | 62 | 63 | 64 | 65 | 52<br>53<br>54 | 59<br>60<br>61 | 55<br>56<br>54 | 59<br>60<br>61 | 57<br>58<br>54 | 59<br>60<br>61 |
| 19 | 84 | 85 | 86 | 87 | 74<br>75<br>76 | 81<br>82<br>83 | 77<br>78<br>76 | 81<br>82<br>83 | 79<br>80<br>76 | 81<br>82<br>83 |
| 16 | 114 | 115 | 116 | 117 | 104<br>105<br>106 | 111<br>112<br>113 | 107<br>108<br>106 | 111<br>112<br>113 | 109<br>110<br>106 | 111<br>112<br>113 |
| 15 | 38 | 39 | 40 | 41 | 28<br>29<br>30 | 35<br>36<br>37 | 31<br>32<br>30 | 35<br>36<br>37 | 33<br>34<br>30 | 35<br>36<br>37 |

A.针对抗BCMA CAR 1的抗ID抗体

[0624] 产生了识别具有来自抗BCMA靶抗体1的抗原结合结构域的示例性抗BCMA CAR 1的scFv部分的抗独特型抗体(抗ID)。抗BCMA CAR 1含有具有源自抗BCMA靶抗体1的可变重链区和可变轻链区的抗BCMA scFv(具有SEQ ID NO:11和12的可变区序列，由SEQ ID NO:14所示的接头分隔开;SEQ ID NO:13所示的scFv序列)、人IgG来源的间隔子、人CD28来源的跨膜

结构域、人4-1BB来源的细胞内信号传导结构域和人CD3ζ来源的信号传导结构域。

[0625] 用与小鼠Fc融合的抗BCMA scFv免疫小鼠。从免疫的小鼠的脾脏分离免疫细胞，并将产生抗体的脾细胞与肿瘤细胞(例如骨髓瘤细胞)融合以产生杂交瘤融合细胞。克隆扩增杂交瘤细胞，并将上清液通过ELISA针对与重组可溶性scFv-Fc结合的能力进行筛选，并通过流式细胞术针对与抗BCMA CAR 1表达细胞的结合进行筛选。将来自杂交瘤克隆的上清液通过ELISA针对非靶scFv-Fc进行反筛选，并通过流式细胞术针对表达非靶CAR的细胞进行反筛选。扩增每个选择的杂交瘤克隆并纯化抗体以进行进一步表征。

[0626] 评估示例性选择的抗ID抗体与用抗BCMA CAR 1工程化的T细胞特异性结合的能力。将约2.5x $10^5$个工程化为表达抗BCMA CAR 1的Jurkat T细胞置于多孔板中，并与5μg/mL的每种纯化的抗ID抗体克隆在4℃下孵育20分钟。将细胞洗涤并与二抗(山羊抗小鼠IgG1、2、3抗体)一起孵育，以检测与细胞表面上表达的抗BCMA CAR 1结合的抗ID抗体。将细胞洗涤并通过流式细胞术评估。

[0627] 抗ID抗体克隆的初始筛选的结果示于图1中。如图所示，克隆10(参见表E1)展现出与样品中抗BCMA CAR 1表达细胞几乎100％结合，并且展现出与其他克隆相比更高的平均荧光强度(MFI)。

[0628] 进一步评估展现出可检测的结合的抗体与表达抗BCMA CAR 1或非靶抗BCMA CAR(抗BCMA CAR 2，参见实施例1.B)的CAR表达T细胞的结合。

[0629] 评估抗ID抗体与用抗BCMA CAR 1或抗BCMA CAR 2工程化的T细胞特异性结合的能力。如上所述评估与抗ID抗体克隆的结合，不同之处是在工程化为表达抗BCMA CAR 1或抗BCMA CAR 2的Jurkat T细胞或作为对照的非工程化(亲本)Jurkat细胞上。还对抗BCMA CAR 1表达Jurkat细胞或抗BCMA CAR 2表达Jurkat细胞用重组BCMA-Fc(在其C末端与IgG的Fc区融合的可溶性人BCMA)融合多肽进行染色，所述融合多肽可以与抗BCMA CAR 1和抗BCMA CAR 2二者结合，作为对照。

[0630] 结果示于图2中。如图所示，克隆10显示出与抗BCMA CAR 1和抗BCMA CAR2二者的结合，并且与抗BCMA CAR 1的结合更高。

B.针对抗BCMA CAR 2的抗ID抗体

[0631] 产生了识别具有来自抗BCMA靶抗体2的抗原结合结构域的不同示例性抗BCMA嵌合抗原受体(CAR)即抗BCMA CAR 2的scFv部分的抗独特型抗体(抗ID)。抗BCMA CAR 2含有具有源自抗BCMA靶抗体2的可变重链区和可变轻链区的抗BCMA scFv(具有SEQ ID NO:25和26的可变区序列，由SEQ ID NO:14所示的接头分隔开;SEQ ID NO:27所示的scFv序列)、人IgG2和IgG4来源的间隔子、人CD28来源的跨膜结构域、人4-1BB来源的细胞内信号传导结构域和人CD3ζ来源的信号传导结构域。

[0632] 类似于上述方法，用CAR的胞外结构域(ECD)部分免疫小鼠，所述胞外结构域含有具有源自抗BCMA靶抗体2的可变区的抗BCMA scFv。

[0633] 通过用二抗检测，通过ELISA测试从免疫的小鼠分离的血清与重组可溶性ECD部分结合的能力。产生杂交瘤融合克隆，并通过ELISA进一步表征其与ECD的结合，并选择阳性克隆。扩增每个选择的杂交瘤克隆并纯化抗体。

1.通过流式细胞术评估抗独特型抗体与抗BCMA CAR的结合

[0634] 评估抗ID抗体克隆与用抗BCMA CAR 2工程化的T细胞特异性结合的能力，以鉴定

适合用于流式细胞术的候选克隆。将1x $10^5$个工程化为表达抗BCMA CAR 1、抗BCMA CAR 2即对不同抗原具有特异性的无关对照CAR(对照CAR)的Jurkat T细胞或非工程化(亲本)Jurkat细胞与2.5μg/mL缀合至AlexaFluor®647荧光团的抗ID抗体克隆在4℃下孵育20分钟。将细胞洗涤并进行流式细胞术分析。还对细胞用重组BCMA-Fc进行染色,所述重组BCMA-Fc可以与抗BCMA CAR 1和抗BCMA CAR 2二者结合,作为对照。

[0635] 如图3A和图3B所示,观察到对于染色抗BCMA CAR 2表达细胞,克隆16(表E1)在所测试的各种克隆中展现出最高的平均荧光强度(MFI)。观察到克隆15(表E1)结合抗BCMA CAR 2表达细胞和抗BCMA CAR 1表达细胞二者(图3A)。观察到所有测试的抗ID抗体克隆(包括16和15)展现出比用BCMA-Fc染色细胞时实现的MFI更高的MFI,但克隆18除外(图3B)。

2.通过BCMA-Fc阻断结合

[0636] 评估了通过重组BCMA-Fc融合多肽阻断抗ID抗体与抗BCMA CAR 2的结合。将抗BCMA CAR 2表达Jurkat细胞与2.5μg/mL缀合至Alexa Fluor®488荧光团的BCMA-Fc在4℃下一起孵育20分钟(BCMA-Fc预处理)。将细胞洗涤并进一步与2.5μg/mL缀合至Alexa Fluor®647荧光团的抗ID抗体克隆之一在4℃下孵育20分钟。比较了仅用抗ID抗体克隆染色的细胞与用BCMA-Fc预处理的细胞之间通过流式细胞术测得的几何平均荧光强度(MFI)。

[0637] 如图4A和图4B以及下面的表E2所示,抗ID克隆15和19与抗BCMA CAR 2的结合基本上没有被BCMA-Fc预处理阻断。这与用BCMA-Fc预处理后展现出弱几何MFI的若干个其他抗ID克隆形成对比(图4B)。

**表E2.**通过BCMA-Fc阻断抗ID结合

| 克隆 | 仅抗ID几何MFI | BCMA-Fc预处理几何MFI |
|---|---|---|
| 15 | 6621 | 4713 |
| 19 | 6660 | 5331 |

3.可溶性或板结合的抗独特型抗体的T细胞刺激激动活性的评估

[0638] 使用报告细胞系测试了上述各种抗ID抗体克隆对T细胞刺激的激动活性。

[0639] 产生了含有Nur77-tdTomato敲入报告基因的报告细胞系,其中将编码tdTomato荧光蛋白的核酸序列在内源性Nur77基因座处敲入。孤儿核激素受体Nur77(也称为Nr4a1)是由来自T细胞受体和/或经由含有基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)的分子的信号激活所诱导的立即早期反应基因。通过以下方式靶向编码tdTomato的核酸序列以在终止密码子之前与最终外显子处内源性Nur77基因进行框内整合:使用基因编辑引入遗传破坏,并通过同源依赖性修复(HDR)靶向在遗传破坏附近的位点处编码tdTomato的核酸序列以进行整合。

[0640] 将Nur77-tdTomato报告细胞系工程化为表达抗BCMA CAR 2,并在与可溶性抗ID抗体或板结合的抗ID抗体一起孵育后评估报告基因表达。为了评估可溶性抗ID抗体,用磷酸盐缓冲盐水(PBS)和10%胎牛血清(FBS)封闭多孔板过夜。将2.5μg/mL的在具有10%FBS的RPMI培养基中的八个抗ID抗体克隆之一添加至板中。为了评估板结合的抗ID抗体,将多孔板用2.5μg/mL的在PBS中的抗ID抗体克隆之一包被,在4℃下过夜或在37℃下4小时,随后用具有10%FBS的RPMI培养基洗涤。将1x $10^5$个Nur77-tdTomato报告细胞添加至每个孔中并在37℃下孵育20小时。将样品用4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色,并通过流式细胞术评估DAPI染色和tdTomato荧光强度。

[0641] 结果示于图5A-图5C中。如图5A和图5C所示，与可溶性抗ID克隆15和16一起孵育展现出最高百分比的tdTomato+细胞，这表明这些克隆(15和16)展现出可溶性形式的激动活性。如图5B和图5C所示，与当板结合时的所有抗ID抗体一起孵育导致除了克隆18外几乎100％的细胞表达tdTomato(图5C)，这表明克隆15和16展现出板结合形式的激动活性。

实施例2:通过候选抗独特型抗体刺激抗BCMA CAR-T细胞

[0642] 评估了候选抗独特型抗体(克隆16)刺激表达抗BCMA CAR 2的原代T细胞的能力。通过从89个健康人供体的白细胞单采术样品的基于免疫亲和力的富集分离了单独的原代CD4+和CD8+T细胞组合物，并将分离的细胞组合物低温冷冻。使用这些组合物，使用示例性抗BCMA CAR-T细胞制造过程制造抗BCMA CAR-T细胞。在该过程中，将分离的CD4+和CD8+T细胞解冻并以大约1:1的活CD4+T细胞与活CD8+T细胞的比率混合，用抗CD3/抗CD28抗体刺激，并用编码实施例1第B部分中所述的示例性抗BCMA CAR(抗BCMA CAR 2)的慢病毒制剂转导。然后在用于扩增的条件下培养细胞。

[0643] 为了评估由上述过程产生的CAR-T细胞的增殖能力，将96孔组织培养板用在200μL的PBS中的30μg/mL克隆16在4℃下包被过夜。包被后，将15,000个总T细胞添加至包被的孔中，并在37℃下孵育六天。在孵育过程中，使用Incucyte成像系统随时间监测细胞增殖。

[0644] 图6显示了在与板结合的克隆16一起孵育期间对于制造的CAR-T细胞的平均生长曲线(即，孔中的平均细胞汇合度百分比)。所示的误差条代表平均值的标准误差。如图6所示，板结合的抗独特型抗体克隆16的CAR刺激导致CAR-T细胞的增殖。这些结果证明，制造过程导致工程化CAR-T细胞组合物显示出强大的CAR T细胞介导的增殖能力。

[0645] 与实施例1的结果一起，这些结果支持以下发现:克隆16展现出板结合形式的激动活性，包括对于表达示例性抗BCMA CAR 2的CAR-T细胞。

实施例3:在基于盒的流动系统中使用候选抗独特型抗体测量CAR表达

[0646] 评估了候选抗独特型抗体(克隆16)用于在基于盒的流动系统(Accellix)中测量抗BCMA CAR表达的用途。为了测试特异性，评估克隆16与被转导以表达抗BCMA CAR 2的原代T细胞(在实施例1第B部分中描述的)、未转导的原代T细胞和被转导以表达非靶抗CD19 CAR的原代T细胞的结合。非靶抗CD19 CAR含有CD19 scFv、免疫球蛋白间隔子、人CD28来源的跨膜结构域、人4-1BB来源的细胞内信号传导结构域和人CD3ζ来源的信号传导结构域。为了在基于盒的流动系统中使用克隆16测试CAR检测频率的线性度，还制备并分析了表达抗BCMA CAR 2的原代T细胞的连续稀释样品。

[0647] 为了产生转导的CAR-T细胞，通过基于从白细胞单采术样品的免疫亲和力的富集分离单独的原代CD4+和CD8+T细胞组合物，并将分离的CD4+和CD8+T细胞以约1:1的活CD4+T细胞与活CD8+T细胞的比率混合，用抗CD3/抗CD28抗体刺激，并用编码CAR的慢病毒制剂转导。转导后，将细胞在培养箱中在约37.0℃下孵育，在刺激开始后96小时收获，并低温保存。

[0648] 为了制备用于测试的细胞样品，将含有低温保存的抗BCMA CAR-T细胞组合物的小瓶解冻并在无血清培养基中洗涤。然后将细胞样品以约20x $10^6$个细胞/mL的浓度重悬于无血清培养基中，之后将重悬的细胞样品在37.0℃±2℃下在气体交换的情况下孵育数小时，然后进行分析。类似地制备含有未转导的原代T细胞或抗CD19 CAR-T细胞的细胞样品。

[0649] 为了使用基于盒的流动系统进行分析，将大约40μL细胞样品分配至含有荧光标记的抗ID克隆16的干燥试剂管中，或者分配至缺少荧光标记的抗ID克隆16抗体作为荧光减一

(FMO)对照的干燥试剂管中。样品和FMO对照干燥的试剂管二者也含有相同的另外的荧光标记抗体,以用于其他T细胞标记物(例如,CD3、CD4、CD8或CD45)的多色流式细胞术检测以及用于对活细胞染色。将试剂管脉冲涡旋两分钟,然后将15μL样品转移到流动盒中。然后将盒插入Accellix台式仪器中以进行信号采集和光谱分析。

[0650] 对于所有后续分析,将细胞门控以排除荧光质量控制珠和死细胞,并将CD3、CD4、CD8和/或CAR表达测量为全染色样品中活CD45+细胞的百分比。使用FMO样品来设置CAR+门,对其进行调整,使得FMO样品中CAR表达的频率为约1.0%(亲本群体%)。

A.候选抗独特型抗体的结合特异性

[0651] 为了测试克隆16对抗BCMA CAR 2的结合特异性,使用含有表达抗BCMA CAR 2的原代T细胞、未转导的原代T细胞或抗CD19 CAR-T细胞的细胞样品如上所述制备FMO和全染色样品并进行分析。

[0652] 表E4显示了不同细胞样品的活CD45+细胞中CD3+CAR+、CD4+CAR+和CD8+CAR+细胞的百分比。在该实验中,CD8+细胞仅代表含有抗BCMA CAR 2表达细胞的细胞样品中总CD3+细胞的14%。被工程化为表达抗BCMA CAR 2的原代T细胞显示出荧光团缀合的克隆16的阳性染色,而未转导的T细胞和抗CD19 CAR-T细胞显示出阴性染色(小于或等于1%CAR频率)。对于含有抗BCMA CAR 2表达细胞的细胞样品,30.3%的CD3+细胞也是CAR+;32.58%的CD4+细胞也是CAR+;并且21.50%的CD8+细胞也是CAR+。

**表E4.**细胞样品和亚类型中的CAR检测频率(活CD45+细胞%)

| 细胞样品 | CD3+CAR+ | CD4+CAR+ | CD8+CAR+ |
|---|---|---|---|
| 抗CD19 CAR | 0.11 | 0.06 | 0.03 |
| 未转导 | 0.01 | 0 | 0 |
| 抗BCMA CAR 2 | 29.49 | 26.21 | 2.96 |

[0653] 这些结果证明了克隆16对抗BCMA CAR 2具有特异性。

B.使用候选抗独特型抗体的CAR检测频率的线性度

[0654] 为了评估线性度,使用含有表达抗BCMA CAR 2的原代T细胞的细胞样品如上所述制备和分析FMO和全染色样品。首先评估未稀释的细胞样品中活CD45+细胞中CD3+和CD3+CAR+细胞的频率。基于该测量,针对五个样品稀释点(80%、50%、25%、10%和5%细胞样品)计算预期的CD3+和CD3+CAR+频率,之后稀释细胞样品并分析观察到的CD3+和CD3+CAR+频率。为了稀释,使用CD3耗尽的、非CAR表达、洗涤的单采术产物作为稀释剂基质。基于预期频率和观察频率的相关性评估CD3+和CD3+CAR+检测的线性度。

[0655] 表E5显示了活CD45+细胞中CD3+细胞的预期和观察到的频率。基于这些值,相关系数($r^2$)值是0.99,其中最佳拟合线具有0.99的斜率和1.80的y截距。

| 表E5.预期和观察到的CD3+检测频率（活CD45+细胞%） | | |
|---|---|---|
| 稀释点（细胞样品%） | 观察到的CD3+ | 预期的CD3+ |
| 100 | 99.26 | 99.26 |
| 80 | 80.34 | 79.41 |
| 50 | 50.58 | 49.63 |
| 25 | 29.15 | 24.82 |
| 10 | 12.59 | 9.926 |
| 5 | 5.59 | 4.96 |

[0656] 表E6显示了活CD45+细胞中CD3+CAR+细胞的预期和观察到的频率。基于这些值，$r^2$值是0.99，其中最佳拟合线具有0.94的斜率和0.54的y截距。

| 表E6.预期和观察到的CD3+CAR+检测频率（活CD45+细胞%） | | |
|---|---|---|
| 稀释点（细胞样品%） | 观察到的CD3+CAR+ | 预期的CD3+CAR+ |
| 100 | 18.32 | 18.32 |
| 80 | 13.52 | 14.66 |
| 50 | 9.27 | 9.16 |
| 25 | 5.53 | 4.58 |
| 10 | 2.7 | 1.83 |
| 5 | 1.2 | 0.916 |

[0657] 总而言之，这些结果表明，使用候选抗独特型抗体(克隆16)允许在基于盒的流动系统中对抗BCMA CAR 2表达进行特异性和准确性评估。

实施例4:候选抗ID抗体的结合动力学和亲和力

[0658] 确定了三种候选抗独特型抗体(克隆15、16和19)对抗BCMA CAR 2的scFv部分的解离速率($k_{off}$)和平衡解离常数($K_D$)。确定了针对可溶性单体scFv-Fc融合蛋白以及针对可溶性二聚体scFv-Fc融合蛋白的解离速率和平衡解离常数。为了比较，还分别针对单体和二聚体scFv-Fc融合蛋白评估了可溶性单体和二聚体BCMA-人Fc融合蛋白的动力学和亲和力。使用BIAcore T200仪器确定解离速率和平衡解离常数。

[0659] 表E7显示了三个候选克隆和单体BCMA-Fc对单体scFv-Fc的解离速率和平衡解离常数。如图所示，与单体BCMA-Fc相比，所有三个克隆均具有解离速率和较低的平衡解离常数。

| 表E7.单体scFv-Fc（来自抗BCMA CAR 2的scFv）的结合动力学和亲和力 | | |
|---|---|---|
| 试剂 | $k_{off}$ (1/s) | $K_D$ (M) |
| 克隆16 | 5.0E-03 | 1.2E-08 |
| 克隆15 | 3.6E-03 | 1.8E-08 |
| 克隆19 | 8.1E-03 | 5.5E-08 |
| 单体BCMA-Fc | 2.4E-02 | 2.9E-07 |

[0660] 表E8显示了三个候选克隆和二聚体BCMA-Fc针对二聚体scFv-Fc的解离速率和平衡解离常数。如图所示，与二聚体BCMA-Fc相比，所有三个克隆具有较低的平衡解离常数。与

二聚体BCMA-Fc相比，克隆15和19具有较低的解离速率，而克隆16具有可比较的解离速率。

**表E8.**针对二聚体scFv-Fc的结合动力学和亲和力（来自抗BCMA CAR 2的scFv）

| 试剂 | $k_{off}$ (1/s) | $K_D$ (M) |
|---|---|---|
| 克隆15 | 4.4E-05 | 2.2E-09 |
| 克隆16 | 1.4E-04 | 2.6E-09 |
| 克隆19 | 6.2E-05 | 3.6E-09 |
| 二聚体BCMA-Fc | 1.4E-04 | 7.0E-09 |

[0661] 这些结果共同表明，候选抗独特型抗体克隆15、16和19与可溶性BCMA-Fc试剂相比具有改善的结合动力学和亲和力，这支持了抗独特型抗体克隆能够更好地靶向表达抗BCMA CAR 2的细胞。

实施例5：使用候选抗ID抗体在体内检测CAR-T细胞

[0662] 评估了候选抗独特型抗体(克隆16)在体内检测CAR-T细胞的能力。来自OPM-2多发性骨髓瘤(MM)细胞系的细胞被工程化为表达绿色荧光蛋白和红移的意大利萤火虫荧光素酶。收获后，经由尾静脉将2x $10^6$个工程化OPM-2细胞静脉内注射至免疫缺陷小鼠中。14天后，经由尾静脉向小鼠静脉内施用约5x $10^5$、1x $10^6$或2x $10^6$个被工程化为表达抗BCMA CAR 2的人CD4+和CD8+T细胞。在CAR-T细胞处理后第7、14、21和28天，从经处理的麻醉小鼠经由眶后窦收集约200μL血液。然后通过用包含荧光团缀合的抗ID克隆16的抗体混合物染色，评估血液样品中所施用的CAR-T细胞的存在。在流式细胞仪上收集流式细胞术事件并进行分析。

[0663] 表E9显示了在CAR-T细胞处理后第7、14、21或28天使用抗ID克隆16在血液中检测到的抗BCMA CAR 2表达细胞的平均计数/μL。每个处理组，表E9中所示的值是四只动物的平均值和标准偏差(SD)。

**表E9.**用表达抗BCMA CAR 2的T细胞处理的小鼠的外周血中CAR-T细胞的定量

| CAR-T细胞剂量 | 第7天 计数/μL的平均值 (SD) | 第14天 计数/μL的平均值 (SD) | 第21天 计数/μL的平均值 (SD) | 第28天 计数/μL的平均值 (SD) |
|---|---|---|---|---|
| 5 x $10^5$个细胞 | 0.617 (0.151) | 0.472 (0.322) | 0.115 (0.196) | 0.126 (0.052) |
| 1 x $10^6$个细胞 | 2.05 (0.85) | 0.442 (0.229) | 0.384 (0.643) | 0.154 (0.206) |
| 2 x $10^6$个细胞 | 4.42 (1.85) | 1.39 (0.75) | 0.326 (0.256) | 6.34 (10.68) |

[0664] 这些结果表明，候选抗独特型抗体克隆16可以用于检测和定量体内表达抗BCMA CAR 2的T细胞。

[0665] 本发明并不旨在限于具体公开的实施方案的范围，所提供的实施例例如是为了说明本发明的各个方面。根据本文的描述和传授，对组合物和方法的各种修改将变得清楚。可以在不脱离本公开文本的真实范围和精神的情况下实践这些变化，并且这些变化旨在落入本公开文本的范围内。

序列

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| 1 | SYWIG | CDR-H1；Kabat（靶抗体1） |
| 2 | IIYPGDSDTRYSPSFQG | CDR-H2；Kabat（靶抗体1） |
| 3 | YSGSFDN | CDR-H3；Kabat、Chothia；AbM（靶抗体1） |
| 4 | GYSFTSY | CDR-H1；Chothia（靶抗体1） |
| 5 | YPGDSD | CDR-H2；Chothia（靶抗体1） |
| 6 | GYSFTSYWIG | CDR-H1；AbM（靶抗体1） |
| 7 | IIYPGDSDTR | CDR-H2；AbM（靶抗体1） |
| 8 | SGTSSNIGSHSVN | CDR-L1；Kabat、Chothia、AbM（靶抗体1） |
| 9 | TNNQRPS | CDR-L2；Kabat、Chothia、AbM（靶抗体1） |
| 10 | AAWDGSLNGLV | CDR-L3；Kabat、Chothia、AbM（靶抗体1） |
| 11 | EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARYSGSFDNWGQGTLVTVSS | VH（靶抗体1） |
| 12 | SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDGSLNGLVFGGGTKLTVLG | VL（靶抗体1） |
| 13 | SYELTQPPSASGTPGQRVTMSCSGTSSNIGSHSVNWYQQLPGTAPKLLIYTNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDGSLNGLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARYSGSFDNWGQGTLVTVSS | scFv（靶抗体1） |
| 14 | SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA | 接头 |
| 15 | DYYVY | CDR-H1；Kabat（靶抗体2） |
| 16 | WINPNSGGTNYAQKFQG | CDR-H2；Kabat（靶抗体2） |
| 17 | SQRDGYMDY | CDR-H3；Kabat、 |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | | Chothia；AbM（靶抗体2） |
| 18 | GYTFIDY | CDR-H1；Chothia（靶抗体2） |
| 19 | NPNSGG | CDR-H2；Chothia（靶抗体2） |
| 20 | GYTFIDYYVY | CDR-H1；AbM（靶抗体2） |
| 21 | WINPNSGGTN | CDR-H2；AbM（靶抗体2） |
| 22 | TGTSSDVG | CDR-L1；Kabat、Chothia、AbM（靶抗体2） |
| 23 | EDSKRPS | CDR-L2；Kabat、Chothia、AbM（靶抗体2） |
| 24 | SSNTRSSTLV | CDR-L3；Kabat、Chothia、AbM（靶抗体2） |
| 25 | EVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGYTFIDYYVYWMRQAPGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRDGYMDYWGQGTLVTVSS | VH（靶抗体2） |
| 26 | QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLG | VL（靶抗体2） |
| 27 | QSALTQPASVSASPGQSIAISCTGTSSDVGWYQQHPGKAPKLMIYEDSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSNTRSSTLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGASLKLSCKASGYTFIDYYVYWMRQAPGQGLESMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAMYYCARSQRDGYMDYWGQGTLVTVSS | scFv（靶抗体2） |
| 28 | SYWMN | CDR-H1；Kabat（克隆15） |
| 29 | QIYPGNGETNNNGKFKG | CDR-H2；Kabat（克隆15） |
| 30 | GGWYFDV | CDR-H3；Kabat、Chothia、AbM（克隆15） |
| 31 | GYAFSSY | CDR-H1；Chothia（克隆15） |
| 32 | YPGNGE | CDR-H2； |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | | Chothia（克隆15） |
| 33 | GYAFSSYWMN | CDR-H1；AbM（克隆15） |
| 34 | QIYPGNGETN | CDR-H2；AbM（克隆15） |
| 35 | RASENIYSYLA | CDR-L1；Kabat、Chothia、AbM（克隆15） |
| 36 | NAYTLAE | CDR-L2；Kabat、Chothia、AbM（克隆15） |
| 37 | QHHYGTPWT | CDR-L3；Kabat、Chothia、AbM（克隆15） |
| 38 | QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGKGLEWIGQIYPGNGETNNNGKFKGKATLTADISSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGGWYFDVWGTGTTVTVSS | VH（克隆15） |
| 39 | DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQGKSPHLLVYNAYTLAEGVPSRFSGSGSDTQFSLKINSLQPEDFGNYYCQHHYGTPWTFGGGTKVEIK | VL（克隆15） |
| 40 | QVQLQQSGAELVKPGASVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGKGLEWIGQIYPGNGETNNNGKFKGKATLTADISSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGGWYFDVWGTGTTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK | 重链（克隆15） |
| 41 | DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENIYSYLAWYQQKQGKSPHLLVYNAYTLAEGVPSRFSGSGSDTQFSLKINSLQPEDFGNYYCQHHYGTPWTFGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC | 轻链（克隆15） |
| 42 | CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCCTGCAAAGCTTCTGGCTACGCATTCAGTAGCTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGAAAGGGTCTTGAATGGATTGGACAGATTTATCCTGGAAATGGTGAAACTAACAACAACGGAAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACATATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGAGGGGGCTGGTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCG | 重链；核苷酸（克隆15） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | TCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCA<br>CTGGCCCCTGGATCTGCTGCCCAAACTAACTCCATGGT<br>GACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCTGAGC<br>CAGTGACAGTGACCTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGC<br>GGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCTGACCT<br>CTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCA<br>CCTGGCCCAGCCAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCCAC<br>CCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGC<br>CCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTC<br>CCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCCCAAAGCCC<br>AAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTCAC<br>GTGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAGGATGATCCCGAGG<br>TCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCAC<br>ACAGCTCAGACGAAACCCCGGGAGGAGCAGATCAACA<br>GCACTTTCCGTTCAGTCAGTGAACTTCCCATCATGCACC<br>AGGACTGGCTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGT<br>CAACAGTGCAGCTTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCA<br>TCTCCAAAACCAAAGGCAGACCGAAGGCTCCACAGGT<br>GTACACCATTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAGG<br>ATAAAGTCAGTCTGACCTGCATGATAACAAACTTCTTC<br>CCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAATGGGC<br>AGCCAGCGGAGAACTACAAGAACACTCAGCCCATCAT<br>GGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAGCTCA<br>ATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAATACTTT<br>CACCTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACAACCACC<br>ATACTGAGAAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTAAATGA | |
| 43 | GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGC<br>ATCTGTGGGAGAAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAA<br>GTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAGCAG<br>AAACAGGGAAAATCTCCTCACCTCCTGGTCTATAATGC<br>ATACACCTTAGCAGAAGGTGTGCCATCAAGATTCAGTG<br>GCAGTGGATCAGACACACAGTTTTCTCTGAAGATCAAC<br>AGTCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAATTATTACTGTCA<br>ACATCATTATGGTACTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCA<br>CCAAGGTGGAAATCAAACGGGCTGATGCTGCACCAAC<br>TGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACAT<br>CTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTCT<br>ACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGG<br>CAGTGAACGACAAAATGGCGTCCTGAACAGTTGGACT<br>GATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCA<br>GCACCCTCACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACAT<br>AACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAAC<br>TTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTT<br>AG | 轻链；核苷酸（克隆15） |
| 44 | MEWPLIFLFLLSGTAGVQS | 前导序列；重链（克隆15） |
| 45 | ATGGAATGGCCTTTGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGGA<br>ACTGCAGGTGTCCAATCC | 前导序列；重链，核苷酸（克隆15） |
| 46 | MSVPTQVLGLLLLWLTGARC | 前导序列；轻链 |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | | （克隆15） |
| 47 | ATGAGTGTGCCCACTCAGGTCCTGGGGTTGCTGCTGCT GTGGCTTACAGGTGCCAGATGT | 前导序列；轻链，核苷酸（克隆15） |
| 48 | CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGTGAA GCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCCTGCAAAGCTTCTG GCTACGCATTCAGTAGCTACTGGATGAACTGGGTGAAG CAGAGGCCTGGAAAGGGTCTTGAATGGATTGGACAGA TTTATCCTGGAAATGGTGAAACTAACAACAACGGAAA GTTCAAGGGCAAGGCCACACTGACTGCAGACATATCCT CCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCT GAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGAGGGGGCTG GTACTTCGATGTCTGGGGCACAGGGACCACGGTCACCG TCTCCTCA | VH；核苷酸（克隆15） |
| 49 | GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGC ATCTGTGGGAGAAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAA GTGAGAATATTTACAGTTATTTAGCATGGTATCAGCAG AAACAGGGAAAATCTCCTCACCTCCTGGTCTATAATGC ATACACCTTAGCAGAAGGTGTGCCATCAAGATTCAGTG GCAGTGGATCAGACACACAGTTTTCTCTGAAGATCAAC AGTCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAATTATTACTGTCA ACATCATTATGGTACTCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCA CCAAGGTGGAAATCAAA | VL；核苷酸（克隆15） |
| 50 | ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK | 间隔子 |
| 51 | MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINA TNIKHFKNCTSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDIL KTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQF SLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINW KKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCW GPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECI QCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCP AGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGL EGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM | 截短的EGFR（tEGFR） |
| 52 | RYWMS | CDR-H1；Kabat（克隆10） |
| 53 | EINPDSSTINYTPSLKD | CDR-H2；Kabat（克隆10） |
| 54 | HGYYWYFDV | CDR-H3；Kabat、Chothia、AbM（克隆10） |
| 55 | GFDFSRY | CDR-H1；Chothia（克隆10） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| 56 | NPDSST | CDR-H2；Chothia（克隆10） |
| 57 | GFDFSRYWMS | CDR-H1；AbM（克隆10） |
| 58 | EINPDSSTIN | CDR-H2；AbM（克隆10） |
| 59 | RASQDISNYLN | CDR-L1；Kabat、Chothia、AbM（克隆10） |
| 60 | YTSRLHS | CDR-L2；Kabat、Chothia、AbM（克隆10） |
| 61 | QQGNTLPYT | CDR-L3；Kabat、Chothia、AbM（克隆10） |
| 62 | EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARHGYYWYFDVWGAGTTVTVSS | VH（克隆10） |
| 63 | DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIK | VL（克隆10） |
| 64 | EVKLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFDFSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYTPSLKDKFIISRDNAKNTLYLQMSKVRSEDTALYYCARHGYYWYFDVWGAGTTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK | 重链（克隆10） |
| 65 | DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC | 轻链（克隆10） |
| 66 | GAGGTGAAGCTTCTCGAGTCTGGAGGTGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCAGGATTCGATTTTAGTAGATACTGGATGAGTTGGGTCCGGCAGGCTCCAGGGAAAGGGCTAGAATGGATTGGAGAAATTAATCCAGATAGCAGTACGATAAACTATACGCCATCTCTAAAGGATAAATTCATCATCTCCAGAGACAACGCCAAAAATACGCTGTACCTGCAAATGAGCAAAGTGAGATCTG | 重链；核苷酸（克隆10） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | AGGACACAGCCCTTTATTACTGTGCAAGACATGGTTAC<br>TACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGT<br>CACCGTCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCATCTGTCT<br>ATCCACTGGCCCCTGGATCTGCTGCCCAAACTAACTCC<br>ATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCC<br>TGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACTCTGGATCCCTGT<br>CCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCT<br>GACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTC<br>CAGCACCTGGCCCAGCGAGACCGTCACCTGCAACGTTG<br>CCCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAAT<br>TGTGCCCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTA<br>CAGTCCCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCCCAA<br>AGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAG<br>GTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAGGATGATCC<br>CGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGG<br>TGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGGGAGGAGCAGTT<br>CAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACTTCCCATCA<br>TGCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGC<br>AGGGTCAACAGTGCAGCTTTCCCTGCCCCCATCGAGAA<br>AACCATCTCCAAAACCAAAGGCAGACCGAAGGCTCCA<br>CAGGTGTACACCATTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGC<br>CAAGGATAAAGTCAGTCTGACCTGCATGATAACAGACT<br>TCTTCCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAAT<br>GGGCAGCCAGCGGAGAACTACAAGAACACTCAGCCCA<br>TCATGGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAG<br>CTCAATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAATA<br>CTTTCACCTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACAAC<br>CACCATACTGAGAAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTAA<br>ATGA | |
| 67 | GAGGTGAAGCTTCTCGAGTCTGGAGGTGGCCTGGTGCA<br>GCCTGGAGGATCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCAG<br>GATTCGATTTTAGTAGATACTGGATGAGTTGGGTCCGG<br>CAGGCTCCAGGGAAAGGGCTAGAATGGATTGGAGAAA<br>TTAATCCAGATAGCAGTACGATAAACTATACGCCATCT<br>CTAAAGGATAAATTCATCATCTCCAGAGACAACGCCAA<br>AAATACGCTGTACCTGCAAATGAGCAAAGTGAGATCTG<br>AGGACACAGCCCTTTATTACTGTGCAAGACATGGTTAC<br>TACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGACCACGGT<br>CACCGTCTCCTCA | VH；核苷酸（克隆10） |
| 68 | GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGC<br>CTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAA<br>GTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAG<br>AAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTACTACAC<br>ATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTG<br>GCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGC<br>AACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCA<br>ACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCGGAGGGGGG<br>ACCAAGCTGGAAATAAAA | VL；核苷酸（克隆10） |
| 69 | GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGC<br>CTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAA | 轻链；核苷酸（克隆10） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | GTCAGGACATTAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAG AAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTACTACAC ATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTG GCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGC AACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCA ACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCGGAGGGGGG ACCAAGCTGGAAATAAAACGGGCTGATGCTGCACCAA CTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACA TCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTC TACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGG CAGTGAACGACAAAATGGCGTCCTGAACAGTTGGACT GATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCA GCACCCTCACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACAT AACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAAC TTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTT AG | |
| 70 | MDFGLIFFIVALLKGVQC | 前导序列；重链（克隆10） |
| 71 | ATGGATTTTGGGCTGATTTTTTTTATTGTTGCTCTTTTAA AAGGGGTCCAGTGT | 前导序列；重链，核苷酸（克隆10） |
| 72 | MSSAQFLGLLLLCFQGTRC | 前导序列；轻链（克隆10） |
| 73 | ATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGT TTTCAAGGTACCAGATGT | 前导序列；轻链，核苷酸（克隆10） |
| 74 | AYWIE | CDR-H1；Kabat（克隆19) |
| 75 | EILPGSGITKYSEKFKG | CDR-H2；Kabat（克隆19） |
| 76 | DYYSDNY | CDR-H3；Kabat、Chothia、AbM（克隆19） |
| 77 | GYTFTAY | CDR-H1；Chothia（克隆19） |
| 78 | LPGSGI | CDR-H2；Chothia（克隆19） |
| 79 | GYTFTAYWIE | CDR-H1；AbM（克隆19） |
| 80 | EILPGSGITK | CDR-H2；AbM（克隆19） |
| 81 | KSSQSLLDSDGRTYLN | CDR-L1；Kabat、Chothia、AbM（克隆19） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| 82 | LVSKLDS | CDR-L2；Kabat、Chothia、AbM（克隆19） |
| 83 | WQGTLFPYT | CDR-L3；Kabat、Chothia、AbM（克隆19） |
| 84 | QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTAYWIEWVK QRPGHGLEWIGEILPGSGITKYSEKFKGKATFTADTSSNTA YMQLSSLTTEDSAIYYCARDYYSDNYWGQGTSVTVSS | VH（克隆19） |
| 85 | DVVMTQIPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGRTYLNWL LQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYYCWQGTLFPYTFGGGTKLEIK | VL（克隆19） |
| 86 | QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYTFTAYWIEWVK QRPGHGLEWIGEILPGSGITKYSEKFKGKATFTADTSSNTA YMQLSSLTTEDSAIYYCARDYYSDNYWGQGTSVTVSSAK TTPPSVYPLAPGCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPESVTVTWN SGSLSSSVHTFPALLQSGLYTMSSSVTVPSSTWPSQTVTCS VAHPASSTTVDKKLEPSGPISTINPCPPCKECHKCPAPNLE GGPSVFIFPPNIKDVLMISLTPKVTCVVVDVSEDDPDVRIS WFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTIRVVSALPIQHQDWM SGKEFKCKVNNKDLPSPIERTISKIKGLVRAPQVYILPPPAE QLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYKDTA PVLDSDGSYFIYSKLDIKTSKWEKTDSFSCNVRHEGLKNY YLKKTISRSPGK | 重链（克隆19） |
| 87 | DVVMTQIPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSDGRTYLNWL LQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGVYYCWQGTLFPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVS IFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQN GVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEA THKTSTSPIVKSFNRNEC | 轻链（克隆19） |
| 88 | CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGATGAA GCCTGGGGCCTCAGTGAAGCTTTCCTGCAAGGCTACTG GCTACACATTCACTGCCTACTGGATAGAGTGGGTAAAG CAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGA TTTTACCTGGAAGTGGTATTACTAAATACAGTGAGAAG TTCAAGGGCAAGGCCACATTCACTGCAGATACATCCTC CAATACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACAACTG AGGACTCTGCCATCTATTACTGTGCAAGAGACTACTAT AGTGACAACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGT CTCCTCAGCCAAAACAACACCCCCATCAGTCTATCCAC TGGCCCCTGGGTGTGGAGATACAACTGGTTCCTCTGTG ACTCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTACTTCCCTGAGTC AGTGACTGTGACTTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCA GTGTGCACACCTTCCCAGCTCTCCTGCAGTCTGGACTCT ACACTATGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCACC TGGCCAAGTCAGACCGTCACCTGCAGCGTTGCTCACCC AGCCAGCAGCACCACGGTGGACAAAAAACTTGAGCCC AGCGGGCCCATTTCAACAATCAACCCCTGTCCTCCATG CAAGGAGTGTCACAAATGCCCAGCTCCTAACCTCGAGG GTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCAAATATCAAG | 重链；核苷酸（克隆19） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | GATGTACTCATGATCTCCCTGACACCCAAGGTCACGTG<br>TGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGACGTCC<br>GGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACA<br>GCTCAGACACAAACCCATAGAGAGGATTACAACAGTA<br>CTATCCGGGTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAG<br>GACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCA<br>ACAACAAAGACCTCCCATCACCCATCGAGAGAACCATC<br>TCAAAAATTAAAGGGCTAGTCAGAGCTCCACAAGTATA<br>CATCTTGCCGCCACCAGCAGAGCAGTTGTCCAGGAAAG<br>ATGTCAGTCTCACTTGCCTGGTCGTGGGCTTCAACCCTG<br>GAGACATCAGTGTGGAGTGGACCAGCAATGGGCATAC<br>AGAGGAGAACTACAAGGACACCGCACCAGTCCTGGAC<br>TCTGACGGTTCTTACTTCATATACAGCAAGCTCGATAT<br>AAAAACAAGCAAGTGGGAGAAAACAGATTCCTTCTCA<br>TGCAACGTGAGACACGAGGGTCTGAAAAATTACTACCT<br>GAAGAAGACCATCTCCCGGTCTCCGGGTAAATGA | |
| 89 | GATGTTGTGATGACCCAGATTCCACTCACTTTGTCGGTT<br>ACCATTGGACAACCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTCAAG<br>TCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAGGACATATTTGA<br>ATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCGC<br>CTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTGGAGTCCCT<br>GACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCAC<br>ATTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGA<br>GTTTATTATTGCTGGCAAGGTACACTTTTTCCGTACACG<br>TTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATAAAACGGGCTG<br>ATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGT<br>GAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTT<br>CTTGAACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGT<br>GGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCCT<br>GAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACC<br>TACAGCATGAGCAGCACCCTCACGTTGACCAAGGACG<br>AGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACT<br>CACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAA<br>CAGGAATGAGTGTTAG | 轻链；核苷酸（克隆19） |
| 90 | CAGGTTCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGATGAA<br>GCCTGGGGCCTCAGTGAAGCTTTCCTGCAAGGCTACTG<br>GCTACACATTCACTGCCTACTGGATAGAGTGGGTAAAG<br>CAGAGGCCTGGACATGGCCTTGAGTGGATTGGAGAGA<br>TTTTACCTGGAAGTGGTATTACTAAATACAGTGAGAAG<br>TTCAAGGGCAAGGCCACATTCACTGCAGATACATCCTC<br>CAATACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACAACTG<br>AGGACTCTGCCATCTATTACTGTGCAAGAGACTACTAT<br>AGTGACAACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGT<br>CTCCTCA | VH；核苷酸（克隆19） |
| 91 | GATGTTGTGATGACCCAGATTCCACTCACTTTGTCGGTT<br>ACCATTGGACAACCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTCAAG<br>TCAGAGCCTCTTAGATAGTGATGGAAGGACATATTTGA<br>ATTGGTTGTTACAGAGGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCGC<br>CTAATCTATCTGGTGTCTAAACTGGACTCTGGAGTCCCT<br>GACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCAC | VL；核苷酸（克隆19） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | ATTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAGTTTATTATTGCTGGCAAGGTACACTTTTTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATAAAA | |
| 92 | MEWTWVFLFLLSVTAGVHS | 前导序列；重链（克隆19） |
| 93 | ATGGAATGGACCTGGGTCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGTAACTGCAGGTGTCCACTCC | 前导序列；重链，核苷酸（克隆19） |
| 94 | MSPAQFLFLLVLWIRETNG | 前导序列；轻链（克隆19） |
| 95 | ATGAGTCCTGCCCAGTTCCTGTTTCTGTTAGTGCTCTGGATTCGGGAAACCAACGGT | 前导序列；轻链，核苷酸（克隆19） |
| 96 | MFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV | CD28跨膜结构域 |
| 97 | RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS | CD28（P10747的氨基酸180-220）智人 |
| 98 | RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS | CD28（LL至GG）智人 |
| 99 | KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL | 4-1BB（Q07011.1的氨基酸214-255）智人 |
| 100 | RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR | CD3-ζ来源的细胞内信号传导结构域（aa） |
| 101 | ESKYGPPCPPCP | 间隔子（IgG4铰链） |
| 102 | ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK | 铰链-$C_H3$间隔子（aa） |
| 103 | ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK | 铰链-$C_H2$-$C_H3$间隔子（aa） |
| 104 | DFYIN | CDR-H1；Kabat（克隆16） |
| 105 | WIFPRSGSTYYNEKFKG | CDR-H2；Kabat（克隆16） |
| 106 | GDGYSGAMDY | CDR-H3；Kabat、Chothia、AbM（克隆16） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| 107 | GYTGTDF | CDR-H1；Chothia（克隆16） |
| 108 | FPRSGS | CDR-H2；Chothia（克隆16） |
| 109 | GYTGTDFYIN | CDR-H1；AbM（克隆16） |
| 110 | WIFPRSGSTY | CDR-H2；AbM（克隆16） |
| 111 | SASQGIRNYLN | CDR-L1；Kabat、Chothia、AbM（克隆16） |
| 112 | YTSNLHS | CDR-L2；Kabat、Chothia、AbM（克隆16） |
| 113 | QQYNNLPRT | CDR-L3；Kabat、Chothia、AbM（克隆16） |
| 114 | QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDFYINWVKQRPGQGLEWIGWIFPRSGSTYYNEKFKGKATLSVDKSSITAYMLLSSLTSEDSAVYFCARGDGYSGAMDYWGQGTSVTVSS | VH（克隆16） |
| 115 | DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQQYNNLPRTFGGGTKLEIK | VL（克隆16） |
| 116 | QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDFYINWVKQRPGQGLEWIGWIFPRSGSTYYNEKFKGKATLSVDKSSITAYMLLSSLTSEDSAVYFCARGDGYSGAMDYWGQGTSVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSQTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTKPREEQINSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK | 重链（克隆16） |
| 117 | DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQGIRNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQQYNNLPRTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC | 轻链（克隆16） |
| 118 | CAGGTCCAGCTACAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTG | 重链；核苷酸（克隆16） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | GCTACACCTTCACTGACTTCTATATAAACTGGGTGAAG<br>CAGAGGCCTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGGATGGA<br>TTTTTCCTAGAAGTGGTAGTACTTACTACAATGAGAAG<br>TTCAAGGGCAAGGCCACACTTAGTGTAGACAAATCTTC<br>CATCACAGCCTACATGTTGCTCAGCAGCCTGACCTCTG<br>AGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGGGGGGATGGT<br>TACTCTGGAGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTC<br>AGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCATCTG<br>TCTATCCACTGGCCCCTGGATCTGCTGCCCAAACTAAC<br>TCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTT<br>CCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACTCTGGATCCC<br>TGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAG<br>TCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCC<br>CTCCAGCACCTGGCCCAGCCAGACCGTCACCTGCAACG<br>TTGCCCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAA<br>AATTGTGCCCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATAT<br>GTACAGTCCCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCC<br>CAAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCT<br>AAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAGGATGA<br>TCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGG<br>AGGTGCACACAGCTCAGACGAAACCCCGGGAGGAGCA<br>GATCAACAGCACTTTCCGTTCAGTCAGTGAACTTCCCA<br>TCATGCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAGGAGTTCAAA<br>TGCAGGGTCAACAGTGCAGCTTTCCCTGCCCCCATCGA<br>GAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGCAGACCGAAGGCT<br>CCACAGGTGTACACCATTCCACCTCCCAAGGAGCAGAT<br>GGCCAAGGATAAAGTCAGTCTGACCTGCATGATAACA<br>AACTTCTTCCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTG<br>GAATGGGCAGCCAGCGGAGAACTACAAGAACACTCAG<br>CCCATCATGGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAG<br>CAAGCTCAATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGA<br>AATACTTTCACCTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCA<br>CAACCACCATACTGAGAAGAGCCTCTCCCACTCTCCTG<br>GTAAATGA | |
| 119 | GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGC<br>CTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGTGCAA<br>GTCAGGGCATTAGAAATTATTTAAACTGGTATCAGCAG<br>AAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTATTACAC<br>ATCAAATTTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTG<br>GCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACCATCAGC<br>AACCTGGAACCTGAAGATATTGCCACTTACTATTGTCA<br>GCAGTATAATAACCTTCCTCGGACGTTCGGTGGAGGCA<br>CCAAGCTGGAAATCAAACGGGCTGATGCTGCACCAACT<br>GTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATC<br>TGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTCT<br>ACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGG<br>CAGTGAACGACAAAATGGCGTCCTGAACAGTTGGACT<br>GATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCA<br>GCACCCTCACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACAT<br>AACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAAC | 轻链；核苷酸（克隆16） |

| # | 序列 | 注释 |
|---|---|---|
| | TTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTAG | |
| 120 | CAGGTCCAGCTACAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACTGACTTCTATATAAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGGATGGATTTTTCCTAGAAGTGGTAGTACTTACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTTAGTGTAGACAAATCTTCCATCACAGCCTACATGTTGCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTGCAAGGGGGGATGGTTACTCTGGAGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA | VH；核苷酸（克隆16） |
| 121 | GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGTGCAAGTCAGGGCATTAGAAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCTGATCTATTACACATCAAATTTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACCATCAGCAACCTGGAACCTGAAGATATTGCCACTTACTATTGTCAGCAGTATAATAACCTTCCTCGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA | VL；核苷酸（克隆16） |
| 122 | MGWSWIFLFLLSGTAGVHC | 前导序列；重链（克隆16） |
| 123 | ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGGAACTGCAGGTGTCCATTGC | 前导序列；重链，核苷酸（克隆16） |
| 124 | MSSAQFLGLLLLCFQGTRC | 前导序列；轻链（克隆16） |
| 125 | ATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGT | 前导序列；轻链，核苷酸（克隆16） |
| 126 | GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP | T2A肽（aa） |
| 127 | LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR | T2A肽（aa） |
| 128 | ATNFSLLKQAGDVEENPGP | P2A肽（aa） |
| 129 | GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP | P2A肽（aa） |
| 130 | QCTNYALLKLAGDVESNPGP | E2A肽（aa） |
| 131 | GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP | E2A肽（aa） |
| 132 | VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP | F2A肽（aa） |
| 133 | GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP | F2A肽（aa） |
| 134 | EGRGSLLTCGDVEENPGP | T2A肽 |

序列表
<110> 朱诺治疗学股份有限公司
<120> 针对BCMA靶向结合结构域的抗独特型抗体及相关组合物和方法
<130> 735042017940
<140> 尚未分配
<141> 同时随同提交
<150> US 62/945,065
<151> 2019-12-06
<150> US 63/061,763
<151> 2020-08-05
<150> US 63/109,839
<151> 2020-11-04
<160> 134
<170> 用于Windows的FastSEQ 4.0版
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Kabat (靶抗体 1)
<400> 1
Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5
<210> 2
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Kabat (靶抗体 1)
<400> 2
Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15
Gly
<210> 3
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> CDR-H3; Kabat, Chothia; AbM (靶抗体 1)
<400> 3
Tyr Ser Gly Ser Phe Asp Asn
1 5
<210> 4
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Chothia (靶抗体 1)
<400> 4
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
1 5
<210> 5
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Chothia (靶抗体 1)
<400> 5
Tyr Pro Gly Asp Ser Asp
1 5
<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; AbM (靶抗体 1)
<400> 6
Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5 10
<210> 7
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; AbM (靶抗体 1)
<400> 7
Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg

1 5 10

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-L1; Kabat, Chothia, AbM (靶抗体 1)

<400> 8

Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser His Ser Val Asn

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-L2; Kabat, Chothia, AbM (靶抗体 1)

<400> 9

Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-L3; Kabat, Chothia, AbM (靶抗体 1)

<400> 10

Ala Ala Trp Asp Gly Ser Leu Asn Gly Leu Val

1 5 10

<210> 11

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> VH (靶抗体 1)

<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Ser Gly Ser Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 12
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (靶抗体 1)
<400> 12

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Met Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser His
20 25 30
Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Gly Ser Leu
85 90 95
Asn Gly Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 13
<211> 248
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> scFv (靶抗体 1)

<400> 13

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Met Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Ser His
20 25 30
Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Gly Ser Leu
85 90 95
Asn Gly Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
100 105 110
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
130 135 140
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser
145 150 155 160
Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly
165 170 175
Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr
180 185 190
Ser Pro Ser Phe Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile
195 200 205
Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
210 215 220
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Ser Gly Ser Phe Asp Asn Trp Gly Gln
225 230 235 240
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 14
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 接头

<400> 14
Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Glu Met Ala
20
<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Kabat (靶抗体 2)
<400> 15
Asp Tyr Tyr Val Tyr
1 5
<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Kabat (靶抗体 2)
<400> 16
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly
<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H3; Kabat, Chothia; AbM (靶抗体 2)
<400> 17
Ser Gln Arg Asp Gly Tyr Met Asp Tyr
1 5
<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Chothia (靶抗体 2)

<400> 18
Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr
1 5
<210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Chothia (靶抗体 2)
<400> 19
Asn Pro Asn Ser Gly Gly
1 5
<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; AbM (靶抗体 2)
<400> 20
Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr Tyr Val Tyr
1 5 10
<210> 21
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; AbM (靶抗体 2)
<400> 21
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn
1 5 10
<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L1; Kabat, Chothia, AbM (靶抗体 2)
<400> 22
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly
1 5

<210> 23
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L2; Kabat, Chothia, AbM (靶抗体 2)
<400> 23
Glu Asp Ser Lys Arg Pro Ser
1 5
<210> 24
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L3; Kabat, Chothia, AbM (靶抗体 2)
<400> 24
Ser Ser Asn Thr Arg Ser Ser Thr Leu Val
1 5 10
<210> 25
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VH (靶抗体 2)
<400> 25
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Met Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Ser Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Ser Gln Arg Asp Gly Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 26
<211> 105
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (靶抗体 2)
<400> 26

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Ala Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Trp Tyr
20 25 30
Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Asp Ser
35 40 45
Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
50 55 60
Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala
65 70 75 80
Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Asn Thr Arg Ser Ser Thr Leu Val Phe Gly
85 90 95
Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105

<210> 27
<211> 244
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> scFv (靶抗体 2)
<400> 27

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Ala Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Trp Tyr
20 25 30
Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Asp Ser
35 40 45
Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly
50 55 60
Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala

65 70 75 80
Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Asn Thr Arg Ser Ser Thr Leu Val Phe Gly
85 90 95
Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Met Ala Glu Val
115 120 125
Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Met Lys Lys Pro Gly Ala Ser Leu
130 135 140
Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Asp Tyr Tyr Val
145 150 155 160
Tyr Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Ser Met Gly Trp
165 170 175
Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly
180 185 190
Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu
195 200 205
Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg
210 215 220
Ser Gln Arg Asp Gly Tyr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
225 230 235 240
Thr Val Ser Ser

<210> 28
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Kabat (克隆 15)
<400> 28
Ser Tyr Trp Met Asn
1 5

<210> 29
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Kabat (克隆 15)
<400> 29
Gln Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Glu Thr Asn Asn Asn Gly Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-H3; Kabat, Chothia, AbM (克隆 15)

<400> 30

Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Val

1 5

<210> 31

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-H1; Chothia (克隆 15)

<400> 31

Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 32

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-H2; Chothia (克隆 15)

<400> 32

Tyr Pro Gly Asn Gly Glu

1 5

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-H1; AbM (克隆 15)

<400> 33

Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr Trp Met Asn

1 5 10

<210> 34

<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; AbM (克隆 15)
<400> 34
Gln Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Glu Thr Asn
1 5 10
<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L1; Kabat, Chothia, AbM (克隆 15)
<400> 35
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L2; Kabat, Chothia, AbM (克隆 15)
<400> 36
Asn Ala Tyr Thr Leu Ala Glu
1 5
<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L3; Kabat, Chothia, AbM (克隆 15)
<400> 37
Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp Thr
1 5
<210> 38
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> VH (克隆 15)
<400> 38

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Glu Thr Asn Asn Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Ile Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 39
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (克隆 15)
<400> 39

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro His Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asn Ala Tyr Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Asp Thr Gln Phe Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 40
<211> 440
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链 (克隆 15)
<400> 40

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Glu Thr Asn Asn Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Ile Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp
165 170 175
Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro
180 185 190
Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys
195 200 205
Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile
210 215 220
Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro
225 230 235 240
Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val

245 250 255
Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val
260 265 270
Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
275 280 285
Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln
290 295 300
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala
305 310 315 320
Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro
325 330 335
Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala
340 345 350
Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn Phe Phe Pro Glu
355 360 365
Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr
370 375 380
Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val Tyr
385 390 395 400
Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe
405 410 415
Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys
420 425 430
Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 41
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 轻链 (克隆 15)
<400> 41
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro His Leu Leu Val
35 40 45
Tyr Asn Ala Tyr Thr Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

Glu Asp Phe Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Trp
85 90 95

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

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

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 42
<211> 1323
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链 (克隆 15)
<400> 42

caggttcagc tgcagcagtc tggggctgag ctggtgaagc ctggggcctc agtgaagatt 60
tcctgcaaag cttctggcta cgcattcagt agctactgga tgaactgggt gaagcagagg 120
cctggaaagg gtcttgaatg gattggacag atttatcctg gaaatggtga aactaacaac 180
aacggaaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca tatcctccag cacagcctac 240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aagagggggc 300
tggtacttcg atgtctgggg cacagggacc acggtcaccg tctcctcagc caaaacgaca 360
cccccatctg tctatccact ggcccctgga tctgctgccc aaactaactc catggtgacc 420
ctgggatgcc tggtcaaggg ctatttccct gagccagtga cagtgacctg gaactctgga 480
tccctgtcca gcggtgtgca caccttccca gctgtcctgc agtctgacct ctacactctg 540
agcagctcag tgactgtccc ctccagcacc tggcccagcc agaccgtcac ctgcaacgtt 600
gcccacccgg ccagcagcac caaggtggac aagaaaattg tgcccaggga ttgtggttgt 660

aagccttgca tatgtacagt cccagaagta tcatctgtct tcatcttccc cccaaagccc 720
aaggatgtgc tcaccattac tctgactcct aaggtcacgt gtgttgtggt agacatcagc 780
aaggatgatc ccgaggtcca gttcagctgg tttgtagatg atgtggaggt gcacacagct 840
cagacgaaac cccgggagga gcagatcaac agcactttcc gttcagtcag tgaacttccc 900
atcatgcacc aggactggct caatggcaag gagttcaaat gcagggtcaa cagtgcagct 960
ttccctgccc ccatcgagaa aaccatctcc aaaaccaaag gcagaccgaa ggctccacag 1020
gtgtacacca ttccacctcc caaggagcag atggccaagg ataaagtcag tctgacctgc 1080
atgataacaa acttcttccc tgaagacatt actgtggagt ggcagtggaa tgggcagcca 1140
gcggagaact acaagaacac tcagcccatc atggacacag atggctctta cttcgtctac 1200
agcaagctca atgtgcagaa gagcaactgg gaggcaggaa atactttcac ctgctctgtg 1260
ttacatgagg gcctgcacaa ccaccatact gagaagagcc tctcccactc tcctggtaaa 1320
tga 1323

<210> 43
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 轻链 (克隆 15)
<400> 43

gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gagcaagtga gaatatttac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctcacctcct ggtctataat gcatacacct tagcagaagg tgtgccatca 180
agattcagtg gcagtggatc agacacacag ttttctctga agatcaacag tctgcagcct 240
gaagattttg ggaattatta ctgtcaacat cattatggta ctccgtggac gttcggtgga 300
ggcaccaagg tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag 645

<210> 44
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 前导序列; 重链 (克隆 15)
<400> 44

Met Glu Trp Pro Leu Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly
1 5 10 15

Val Gln Ser

<210> 45

<211> 57

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列; 重链 (克隆 15)

<400> 45

atggaatggc ctttgatctt tctcttcctc ctgtcaggaa ctgcaggtgt ccaatcc 57

<210> 46

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列; 轻链 (克隆 15)

<400> 46

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15

Gly Ala Arg Cys
20

<210> 47

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列; 轻链 (克隆 15)

<400> 47

atgagtgtgc ccactcaggt cctggggttg ctgctgctgt ggcttacagg tgccagatgt 60

<210> 48

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> VH (克隆 15)

<400> 48

caggttcagc tgcagcagtc tggggctgag ctggtgaagc ctggggcctc agtgaagatt 60

tcctgcaaag cttctggcta cgcattcagt agctactgga tgaactgggt gaagcagagg 120

cctggaaagg gtcttgaatg gattggacag atttatcctg gaaatggtga aactaacaac 180

aacggaaagt tcaagggcaa ggccacactg actgcagaca tatcctccag cacagcctac 240

atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aagaggggc 300
tggtacttcg atgtctgggg cacagggacc acggtcaccg tctcctca 348
<210> 49
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (克隆 15)
<400> 49
gacatccaga tgactcagtc tccagcctcc ctatctgcat ctgtgggaga aactgtcacc 60
atcacatgtc gagcaagtga gaatatttac agttatttag catggtatca gcagaaacag 120
ggaaaatctc ctcacctcct ggtctataat gcatacacct tagcagaagg tgtgccatca 180
agattcagtg gcagtggatc agacacacag ttttctctga agatcaacag tctgcagcct 240
gaagattttg ggaattatta ctgtcaacat cattatggta ctccgtggac gttcggtgga 300
ggcaccaagg tggaaatcaa a 321
<210> 50
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 间隔子
<400> 50

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Glu | Ser | Lys | Tyr | Gly | Pro | Pro | Cys | Pro | Pro | Cys | Pro | Ala | Pro | Pro | Val |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | | 15 | |
| Ala | Gly | Pro | Ser | Val | Phe | Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro | Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| Gln | Glu | Asp | Pro | Glu | Val | Gln | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr | Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Phe | Gln | Ser | Thr |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val | Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys | Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Gly | Leu | Pro | Ser | Ser |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
| Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser | Lys | Ala | Lys | Gly | Gln | Pro | Arg | Glu | Pro | Gln |
| | | 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | |
| Val | Tyr | Thr | Leu | Pro | Pro | Ser | Gln | Glu | Glu | Met | Thr | Lys | Asn | Gln | Val |

130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
145 150 155 160
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
180 185 190
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220
Ser Leu Gly Lys
225

<210> 51
<211> 357
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 截短的 EGFR (tEGFR)
<400> 51

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro
1 5 10 15
Ala Phe Leu Leu Ile Pro Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly
20 25 30
Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe
35 40 45
Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala
50 55 60
Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu
65 70 75 80
Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile
85 90 95
Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu
100 105 110
Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala
115 120 125
Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu
130 135 140
Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr

145 150 155 160
Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys
165 170 175
Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly
180 185 190
Gln Val Cys His Ala Leu Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu
195 200 205
Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys
210 215 220
Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu
225 230 235 240
Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met
245 250 255
Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala
260 265 270
His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val
275 280 285
Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His
290 295 300
Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro
305 310 315 320
Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala
325 330 335
Thr Gly Met Val Gly Ala Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly
340 345 350
Ile Gly Leu Phe Met
355

<210> 52
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Kabat (克隆 10)
<400> 52
Arg Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 53
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Kabat (克隆 10)
<400> 53
Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu Lys
1 5 10 15
Asp
<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H3; Kabat, Chothia, AbM (克隆 10)
<400> 54
His Gly Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5
<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Chothia (克隆 10)
<400> 55
Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr
1 5
<210> 56
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Chothia (克隆 10)
<400> 56
Asn Pro Asp Ser Ser Thr
1 5
<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> CDR-H1; AbM (克隆 10)
<400> 57
Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp Met Ser
1 5 10
<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; AbM (克隆 10)
<400> 58
Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn
1 5 10
<210> 59
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L1; Kabat, Chothia, AbM (克隆 10)
<400> 59
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L2; Kabat, Chothia, AbM (克隆 10)
<400> 60
Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5
<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L3; Kabat, Chothia, AbM (克隆 10)
<400> 61
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 62
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VH (克隆 10)
<400> 62

Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Gly Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 63
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (克隆 10)
<400> 63

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 64
<211> 442
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链 (克隆 10)
<400> 64

Glu Val Lys Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile Asn Tyr Thr Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Asp Lys Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Ser Lys Val Arg Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Gly Tyr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr
180 185 190
Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro
210 215 220
Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
225 230 235 240
Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys
245 250 255
Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp
260 265 270
Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu
275 280 285
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met
290 295 300
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser
305 310 315 320
Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
325 330 335
Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln
340 345 350
Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe
355 360 365
Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu
370 375 380
Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe
385 390 395 400
Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn
405 410 415
Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
420 425 430
Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 65
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 轻链 (克隆 10)
<400> 65

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

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 66
<211> 1329
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链 (克隆 10)
<400> 66

gaggtgaagc ttctcgagtc tggaggtggc ctggtgcagc ctggaggatc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctcaggatt cgattttagt agatactgga tgagttgggt ccggcaggct 120
ccagggaaag ggctagaatg gattggagaa attaatccag atagcagtac gataaactat 180
acgccatctc taaaggataa attcatcatc tccagagaca acgccaaaaa tacgctgtac 240
ctgcaaatga gcaaagtgag atctgaggac acagcccttt attactgtgc aagacatggt 300
tactactggt acttcgatgt ctggggcgca gggaccacgg tcaccgtctc ctcagccaaa 360

acgacacccc catctgtcta tccactggcc cctggatctg ctgcccaaac taactccatg 420
gtgaccctgg gatgcctggt caagggctat ttccctgagc cagtgacagt gacctggaac 480
tctggatccc tgtccagcgg tgtgcacacc ttcccagctg tcctgcagtc tgacctctac 540
actctgagca gctcagtgac tgtcccctcc agcacctggc ccagcgagac cgtcacctgc 600
aacgttgccc acccggccag cagcaccaag gtggacaaga aaattgtgcc cagggattgt 660
ggttgtaagc cttgcatatg tacagtccca gaagtatcat ctgtcttcat cttcccccca 720
aagcccaagg atgtgctcac cattactctg actcctaagg tcacgtgtgt tgtggtagac 780
atcagcaagg atgatcccga ggtccagttc agctggtttg tagatgatgt ggaggtgcac 840
acagctcaga cgcaaccccg ggaggagcag ttcaacagca ctttccgctc agtcagtgaa 900
cttcccatca tgcaccagga ctggctcaat ggcaaggagt tcaaatgcag ggtcaacagt 960
gcagctttcc ctgcccccat cgagaaaacc atctccaaaa ccaaaggcag accgaaggct 1020
ccacaggtgt acaccattcc acctcccaag gagcagatgg ccaaggataa agtcagtctg 1080
acctgcatga taacagactt cttccctgaa gacattactg tggagtggca gtggaatggg 1140
cagccagcgg agaactacaa gaacactcag cccatcatgg acacagatgg ctcttacttc 1200
gtctacagca agctcaatgt gcagaagagc aactgggagg caggaaatac tttcacctgc 1260
tctgtgttac atgagggcct gcacaaccac catactgaga agagcctctc ccactctcct 1320
ggtaaatga 1329

<210> 67
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> VH (克隆 10)
<400> 67

gaggtgaagc ttctcgagtc tggaggtggc ctggtgcagc ctggaggatc cctgaaactc 60
tcctgtgcag cctcaggatt cgattttagt agatactgga tgagttgggt ccggcaggct 120
ccagggaaag ggctagaatg gattggagaa attaatccag atagcagtac gataaactat 180
acgccatctc taaaggataa attcatcatc tccagagaca acgccaaaaa tacgctgtac 240
ctgcaaatga gcaaagtgag atctgaggac acagcccttt attactgtgc aagacatggt 300
tactactggt acttcgatgt ctggggcgca gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 68
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (克隆 10)
<400> 68

gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120

gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggaaataaa a 321

<210> 69
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 轻链 (克隆 10)
<400> 69

gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
atcagttgca gggcaagtca ggacattagc aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120
gatggaactg ttaaactcct gatctactac acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240
gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg 300
gggaccaagc tggaaataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360
tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag 645

<210> 70
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 前导序列; 重链 (克隆 10)
<400> 70

Met Asp Phe Gly Leu Ile Phe Phe Ile Val Ala Leu Leu Lys Gly Val
1 5 10 15
Gln Cys

<210> 71
<211> 54
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 前导序列; 重链 (克隆 10)
<400> 71

atggattttg ggctgatttt ttttattgtt gctcttttaa aaggggtcca gtgt 54

<210> 72

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列; 轻链 (克隆 10)

<400> 72

Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln Gly
1 5 10 15

Thr Arg Cys

<210> 73

<211> 57

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列; 轻链 (克隆 10)

<400> 73

atgtcctctg ctcagttcct tggtctcctg ttgctctgtt ttcaaggtac cagatgt 57

<210> 74

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-H1; Kabat (克隆 19)

<400> 74

Ala Tyr Trp Ile Glu
1 5

<210> 75

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CDR-H2; Kabat (克隆 19)

<400> 75

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ile Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 76

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H3; Kabat, Chothia, AbM (克隆 19)
<400> 76
Asp Tyr Tyr Ser Asp Asn Tyr
1 5
<210> 77
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Chothia (克隆 19)
<400> 77
Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
1 5
<210> 78
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Chothia (克隆 19)
<400> 78
Leu Pro Gly Ser Gly Ile
1 5
<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; AbM (克隆 19)
<400> 79
Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Trp Ile Glu
1 5 10
<210> 80
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CDR-H2; AbM (克隆 19)
<400> 80
Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ile Thr Lys
1 5 10
<210> 81
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L1; Kabat, Chothia, AbM (克隆 19)
<400> 81
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser Asp Gly Arg Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15
<210> 82
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L2; Kabat, Chothia, AbM (克隆 19)
<400> 82
Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser
1 5
<210> 83
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L3; Kabat, Chothia, AbM (克隆 19)
<400> 83
Trp Gln Gly Thr Leu Phe Pro Tyr Thr
1 5
<210> 84
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VH (克隆 19)
<400> 84

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ile Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Ser Asp Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115

<210> 85
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (克隆 19)
<400> 85

Asp Val Val Met Thr Gln Ile Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30
Asp Gly Arg Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95
Thr Leu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 86
<211> 452

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链 (克隆 19)
<400> 86

```
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Met Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
            20                  25                  30
Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Gly Ile Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Thr Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Tyr Tyr Ser Asp Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala
        115                 120                 125
Pro Gly Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140
Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Ser Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160
Ser Leu Ser Ser Ser Val His Thr Phe Pro Ala Leu Leu Gln Ser Gly
                165                 170                 175
Leu Tyr Thr Met Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp Pro
            180                 185                 190
Ser Gln Thr Val Thr Cys Ser Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Thr
        195                 200                 205
Val Asp Lys Lys Leu Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Pro
    210                 215                 220
Cys Pro Pro Cys Lys Glu Cys His Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Glu
225                 230                 235                 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Asn Ile Lys Asp Val Leu
                245                 250                 255
Met Ile Ser Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270
```

Glu Asp Asp Pro Asp Val Arg Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu
275 280 285
Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Ile Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser
305 310 315 320
Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ser Pro
325 330 335
Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Ile Lys Gly Leu Val Arg Ala Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser Arg Lys Asp Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly Asp Ile Ser Val
370 375 380
Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr Lys Asp Thr Ala
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr Ser Lys Leu Asp
405 410 415
Ile Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe Ser Cys Asn Val
420 425 430
Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys Thr Ile Ser Arg
435 440 445
Ser Pro Gly Lys
450

<210> 87
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 轻链 (克隆 19)
<400> 87

Asp Val Val Met Thr Gln Ile Pro Leu Thr Leu Ser Val Thr Ile Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30
Asp Gly Arg Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Trp Gln Gly
85 90 95
Thr Leu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125
Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe
130 135 140
Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg
145 150 155 160
Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu
180 185 190
Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser
195 200 205
Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 88
<211> 1359
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 重链 (克隆 19)
<400> 88

caggttcagc tgcagcagtc tggagctgag ctgatgaagc ctggggcctc agtgaagctt 60
tcctgcaagg ctactggcta cacattcact gcctactgga tagagtgggt aaagcagagg 120
cctggacatg gccttgagtg gattggagag attttacctg gaagtggtat tactaaatac 180
agtgagaagt tcaagggcaa ggccacattc actgcagata catcctccaa tacagcctac 240
atgcaactca gcagcctgac aactgaggac tctgccatct attactgtgc aagagactac 300
tatagtgaca actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcctcagc caaaacaaca 360
cccccatcag tctatccact ggcccctggg tgtggagata caactggttc ctctgtgact 420
ctgggatgcc tggtcaaggg ctacttccct gagtcagtga ctgtgacttg gaactctgga 480
tccctgtcca gcagtgtgca caccttccca gctctcctgc agtctggact ctacactatg 540
agcagctcag tgactgtccc ctccagcacc tggccaagtc agaccgtcac ctgcagcgtt 600
gctcacccag ccagcagcac cacggtggac aaaaaacttg agcccagcgg gcccatttca 660
acaatcaacc cctgtcctcc atgcaaggag tgtcacaaat gcccagctcc taacctcgag 720

ggtggaccat ccgtcttcat cttccctcca aatatcaagg atgtactcat gatctccctg 780
acacccaagg tcacgtgtgt ggtggtggat gtgagcgagg atgacccaga cgtccggatc 840
agctggtttg tgaacaacgt ggaagtacac acagctcaga cacaaaccca tagagaggat 900
tacaacagta ctatccgggt ggtcagtgcc ctccccatcc agcaccagga ctggatgagt 960
ggcaaggagt tcaaatgcaa ggtcaacaac aaagacctcc catcacccat cgagagaacc 1020
atctcaaaaa ttaaagggct agtcagagct ccacaagtat acatcttgcc gccaccagca 1080
gagcagttgt ccaggaaaga tgtcagtctc acttgcctgg tcgtgggctt caaccctgga 1140
gacatcagtg tggagtggac cagcaatggg catacagagg agaactacaa ggacaccgca 1200
ccagtcctgg actctgacgg ttcttacttc atatacagca agctcgatat aaaaacaagc 1260
aagtgggaga aaacagattc cttctcatgc aacgtgagac acgagggtct gaaaaattac 1320
tacctgaaga agaccatctc ccggtctccg ggtaaatga 1359

<210> 89
<211> 660
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 轻链 (克隆 19)
<400> 89

gatgttgtga tgacccagat tccactcact ttgtcggtta ccattggaca accagcctcc 60
atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gatagtgatg gaaggacata tttgaattgg 120
ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaatct atctggtgtc taaactggac 180
tctggagtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcaggga cagatttcac attgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tttgggagtt tattattgct ggcaaggtac acttttccg 300
tacacgttcg gaggggggac caagctggag ataaaacggg ctgatgctgc accaactgta 360
tccatcttcc caccatccag tgagcagtta acatctggag gtgcctcagt cgtgtgcttc 420
ttgaacaact tctaccccaa agacatcaat gtcaagtgga agattgatgg cagtgaacga 480
caaaatggcg tcctgaacag ttggactgat caggacagca aagacagcac ctacagcatg 540
agcagcaccc tcacgttgac caaggacgag tatgaacgac ataacagcta tacctgtgag 600
gccactcaca agacatcaac ttcacccatt gtcaagagct tcaacaggaa tgagtgttag 660

<210> 90
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> VH (克隆 19)
<400> 90

caggttcagc tgcagcagtc tggagctgag ctgatgaagc ctggggcctc agtgaagctt 60
tcctgcaagg ctactggcta cacattcact gcctactgga tagagtgggt aaagcagagg 120
cctggacatg gccttgagtg gattggagag attttacctg gaagtggtat tactaaatac 180

agtgagaagt tcaagggcaa ggccacattc actgcagata catcctccaa tacagcctac 240
atgcaactca gcagcctgac aactgaggac tctgccatct attactgtgc aagagactac 300
tatagtgaca actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcctca 348
<210> 91
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (克隆 19)
<400> 91
gatgttgtga tgacccagat tccactcact ttgtcggtta ccattggaca accagcctcc 60
atctcttgca agtcaagtca gagcctctta gatagtgatg gaaggacata tttgaattgg 120
ttgttacaga ggccaggcca gtctccaaag cgcctaatct atctggtgtc taaactggac 180
tctggagtcc ctgacaggtt cactggcagt ggatcaggga cagatttcac attgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tttgggagtt tattattgct ggcaaggtac acttttccg 300
tacacgttcg gaggggggac caagctggag ataaaa 336
<210> 92
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 前导序列; 重链 (克隆 19)
<400> 92
Met Glu Trp Thr Trp Val Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Ala Gly
1 5 10 15
Val His Ser
<210> 93
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 前导序列; 重链 (克隆 19)
<400> 93
atggaatgga cctgggtctt tctcttcctc ctgtcagtaa ctgcaggtgt ccactcc 57
<210> 94
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 前导序列; 轻链 (克隆 19)
<400> 94
Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Val Leu Trp Ile Arg Glu
1 5 10 15
Thr Asn Gly
<210> 95
<211> 57
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 前导序列; 轻链 (克隆 19)
<400> 95
atgagtcctg cccagttcct gtttctgtta gtgctctgga ttcgggaaac caacggt 57
<210> 96
<211> 28
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> CD28 跨膜结构域
<400> 96
Met Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
1 5 10 15
Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
20 25
<210> 97
<211> 41
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> CD28 (P10747的氨基酸180-220)
<400> 97
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40
<210> 98
<211> 41

<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> CD28 (LL至GG)
<400> 98

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 99
<211> 42
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 4-1BB (Q07011.1的氨基酸214-255)
<400> 99

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 100
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> CD3-ζ 来源的细胞内信号传导结构域
<400> 100

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 101
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 间隔子 (IgG4铰链)
<400> 101
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 102
<211> 119
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 铰链-CH3 间隔子
<400> 102
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Gly Gln Pro Arg
1 5 10 15
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
20 25 30
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
35 40 45
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
50 55 60
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
65 70 75 80
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
85 90 95
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
100 105 110
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
115

<210> 103

<211> 229
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<220>
<223> 铰链-CH2-CH3 间隔子
<400> 103

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
165 170 175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
195 200 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
210 215 220
Leu Ser Leu Gly Lys
225

<210> 104
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Kabat (克隆 16)
<400> 104
Asp Phe Tyr Ile Asn
1 5
<210> 105
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; Kabat (克隆 16)
<400> 105
Trp Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 106
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H3; Kabat, Chothia, AbM (克隆 16)
<400> 106
Gly Asp Gly Tyr Ser Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; Chothia (克隆 16)
<400> 107
Gly Tyr Thr Gly Thr Asp Phe
1 5
<210> 108
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> CDR-H2; Chothia (克隆 16)
<400> 108
Phe Pro Arg Ser Gly Ser
1 5
<210> 109
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H1; AbM (克隆 16)
<400> 109
Gly Tyr Thr Gly Thr Asp Phe Tyr Ile Asn
1 5 10
<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-H2; AbM (克隆 16)
<400> 110
Trp Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr
1 5 10
<210> 111
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L1; Kabat, Chothia, AbM (克隆 16)
<400> 111
Ser Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 112
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L2; Kabat, Chothia, AbM (克隆 16)
<400> 112
Tyr Thr Ser Asn Leu His Ser

1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> CDR-L3; Kabat, Chothia, AbM (克隆 16)
<400> 113
Gln Gln Tyr Asn Asn Leu Pro Arg Thr
1 5

<210> 114
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VH (克隆 16)
<400> 114
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Phe
20 25 30
Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Ser Ile Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Leu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Gly Tyr Ser Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 115
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (克隆 16)

<400> 115

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Leu Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 116

<211> 443

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重链 (克隆 16)

<400> 116

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Phe
20 25 30
Tyr Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Trp Ile Phe Pro Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Ser Val Asp Lys Ser Ser Ile Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Leu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Gly Tyr Ser Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu

130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
195 200 205
Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys
210 215 220
Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro
225 230 235 240
Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr
245 250 255
Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser
260 265 270
Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro Arg
275 280 285
Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile
290 295 300
Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn
305 310 315 320
Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
325 330 335
Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu
340 345 350
Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn Phe
355 360 365
Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala
370 375 380
Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr
385 390 395 400
Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly
405 410 415
Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His
420 425 430
Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 117
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 轻链 (克隆 16)
<400> 117

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Leu Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110
Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125
Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140
Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160
Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190
Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 118
<211> 1332
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 重链 (克隆 16)
<400> 118
caggtccagc tacagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcact gacttctata taaactgggt gaagcagagg 120
cctggacagg gacttgagtg gattggatgg atttttccta gaagtggtag tacttactac 180
aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactt agtgtagaca aatcttccat cacagcctac 240
atgttgctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aaggggggat 300
ggttactctg gagctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctcagcc 360
aaaacgacac ccccatctgt ctatccactg gcccctggat ctgctgccca aactaactcc 420
atggtgaccc tgggatgcct ggtcaagggc tatttccctg agccagtgac agtgacctgg 480
aactctggat ccctgtccag cggtgtgcac accttcccag ctgtcctgca gtctgacctc 540
tacactctga gcagctcagt gactgtcccc tccagcacct ggcccagcca gaccgtcacc 600
tgcaacgttg cccacccggc cagcagcacc aaggtggaca agaaaattgt gcccagggat 660
tgtggttgta agccttgcat atgtacagtc ccagaagtat catctgtctt catcttcccc 720
ccaaagccca aggatgtgct caccattact ctgactccta aggtcacgtg tgttgtggta 780
gacatcagca aggatgatcc cgaggtccag ttcagctggt ttgtagatga tgtggaggtg 840
cacacagctc agacgaaacc ccgggaggag cagatcaaca gcactttccg ttcagtcagt 900
gaacttccca tcatgcacca ggactggctc aatggcaagg agttcaaatg cagggtcaac 960
agtgcagctt tccctgcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg cagaccgaag 1020
gctccacagg tgtacaccat tccacctccc aaggagcaga tggccaagga taaagtcagt 1080
ctgacctgca tgataacaaa cttcttccct gaagacatta ctgtggagtg gcagtggaat 1140
gggcagccag cggagaacta caagaacact cagcccatca tggacacaga tggctcttac 1200
ttcgtctaca gcaagctcaa tgtgcagaag agcaactggg aggcaggaaa tactttcacc 1260
tgctctgtgt tacatgaggg cctgcacaac caccatactg agaagagcct ctcccactct 1320
cctggtaaat ga 1332
<210> 119
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 轻链 (克隆 16)
<400> 119
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
atcagttgca gtgcaagtca gggcattaga aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120
gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatcaaatt tacactcagg agtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcaa cctggaacct 240
gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag tataataacc ttcctcggac gttcggtgga 300
ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 360

tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 420
cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 480
aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 540
ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 600
tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttag 645

<210> 120
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> VH (克隆 16)
<400> 120
caggtccagc tacagcagtc tggacctgag ctggtgaagc ctggggcttc agtgaagata 60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcact gacttctata taaactgggt gaagcagagg 120
cctggacagg gacttgagtg gattggatgg atttttccta gaagtggtag tacttactac 180
aatgagaagt tcaagggcaa ggccacactt agtgtagaca aatcttccat cacagcctac 240
atgttgctca gcagcctgac ctctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aaggggggat 300
ggttactctg gagctatgga ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctcctca 357

<210> 121
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> VL (克隆 16)
<400> 121
gatatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60
atcagttgca gtgcaagtca gggcattaga aattatttaa actggtatca gcagaaacca 120
gatggaactg ttaaactcct gatctattac acatcaaatt tacactcagg agtcccatca 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcaa cctggaacct 240
gaagatattg ccacttacta ttgtcagcag tataataacc ttcctcggac gttcggtgga 300
ggcaccaagc tggaaatcaa a 321

<210> 122
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 前导序列; 重链 (克隆 16)
<400> 122
Met Gly Trp Ser Trp Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Gly Thr Ala Gly

1 5 10 15

Val His Cys

<210> 123

<211> 57

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列; 重链 (克隆 16)

<400> 123

atgggatgga gctggatctt tctcttcctc ctgtcaggaa ctgcaggtgt ccattgc 57

<210> 124

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列; 轻链 (克隆 16)

<400> 124

Met Ser Ser Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Gln Gly

1 5 10 15

Thr Arg Cys

<210> 125

<211> 57

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 前导序列; 轻链 (克隆 16)

<400> 125

atgtcctctg ctcagttcct tggtctcctg ttgctctgtt ttcaaggtac cagatgt 57

<210> 126

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> T2A 肽

<400> 126

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 127
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T2A 肽
<400> 127
Leu Glu Gly Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp
1 5 10 15
Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg
20
<210> 128
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> P2A 肽
<400> 128
Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
1 5 10 15
Pro Gly Pro
<210> 129
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> P2A 肽
<400> 129
Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15
Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20
<210> 130
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> E2A 肽
<400> 130

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser
1 5 10 15
Asn Pro Gly Pro
20

<210> 131
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> E2A 肽
<400> 131
Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp
1 5 10 15
Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 132
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F2A 肽
<400> 132
Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val
1 5 10 15
Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 133
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> F2A 肽
<400> 133
Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15
Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 134
<211> 18

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> T2A 肽
<400> 134

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Glu | Gly | Arg | Gly | Ser | Leu | Leu | Thr | Cys | Gly | Asp | Val | Glu | Glu | Asn | Pro |
| 1 | | | | 5 | | | | 10 | | | | | 15 | | |

Gly Pro

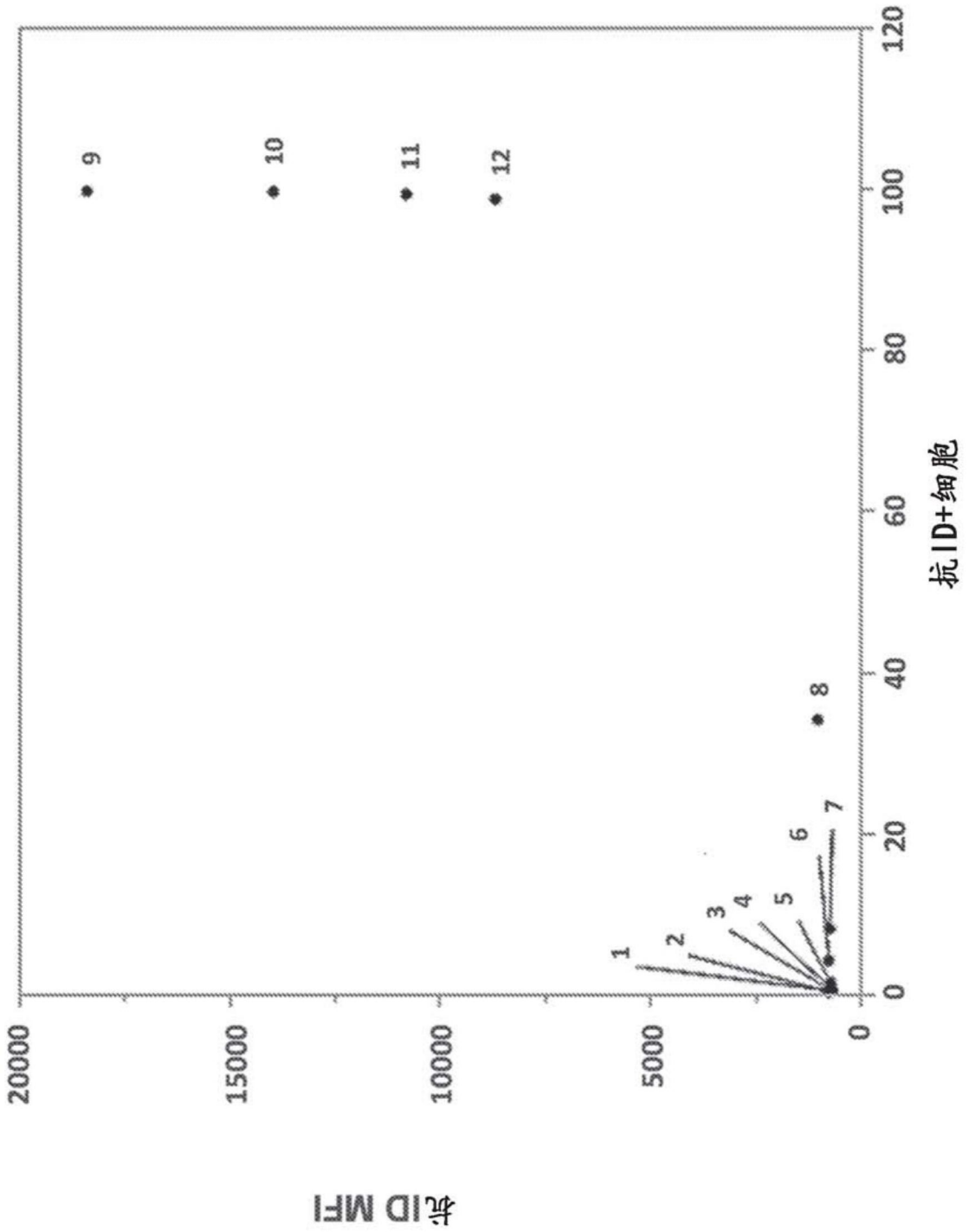

抗ID MFI
20000
15000
10000
5000
0
0
20
40
60
80
100
120
抗ID+细胞
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

图1

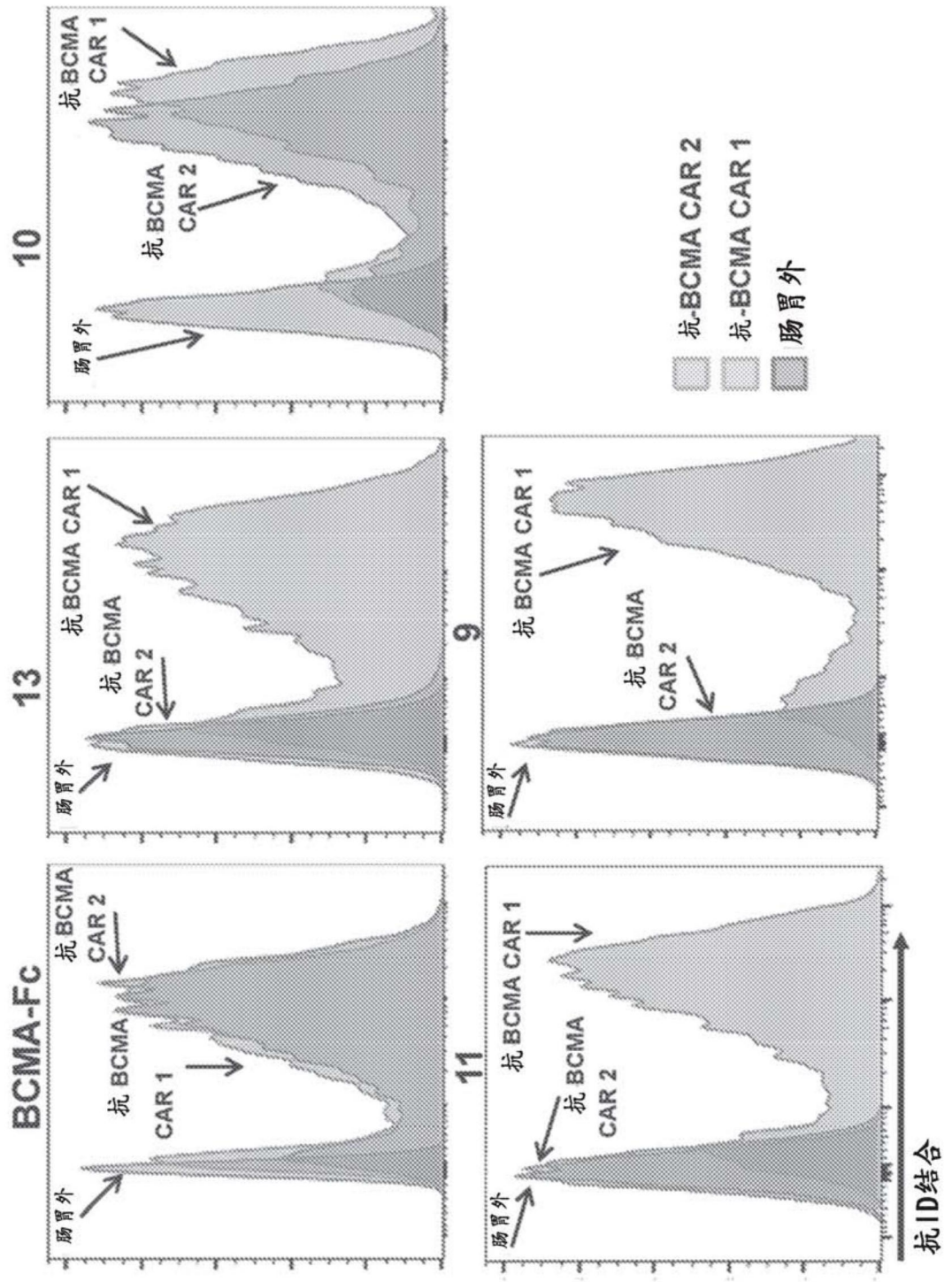

BCMA-Fc
13
9
10
11
肠胃外
抗 BCMA CAR 1
抗 BCMA CAR 2
抗 BCMA
CAR 1
CAR 2
抗-BCMA CAR 2
抗-BCMA CAR 1
肠胃外
抗ID结合

图2

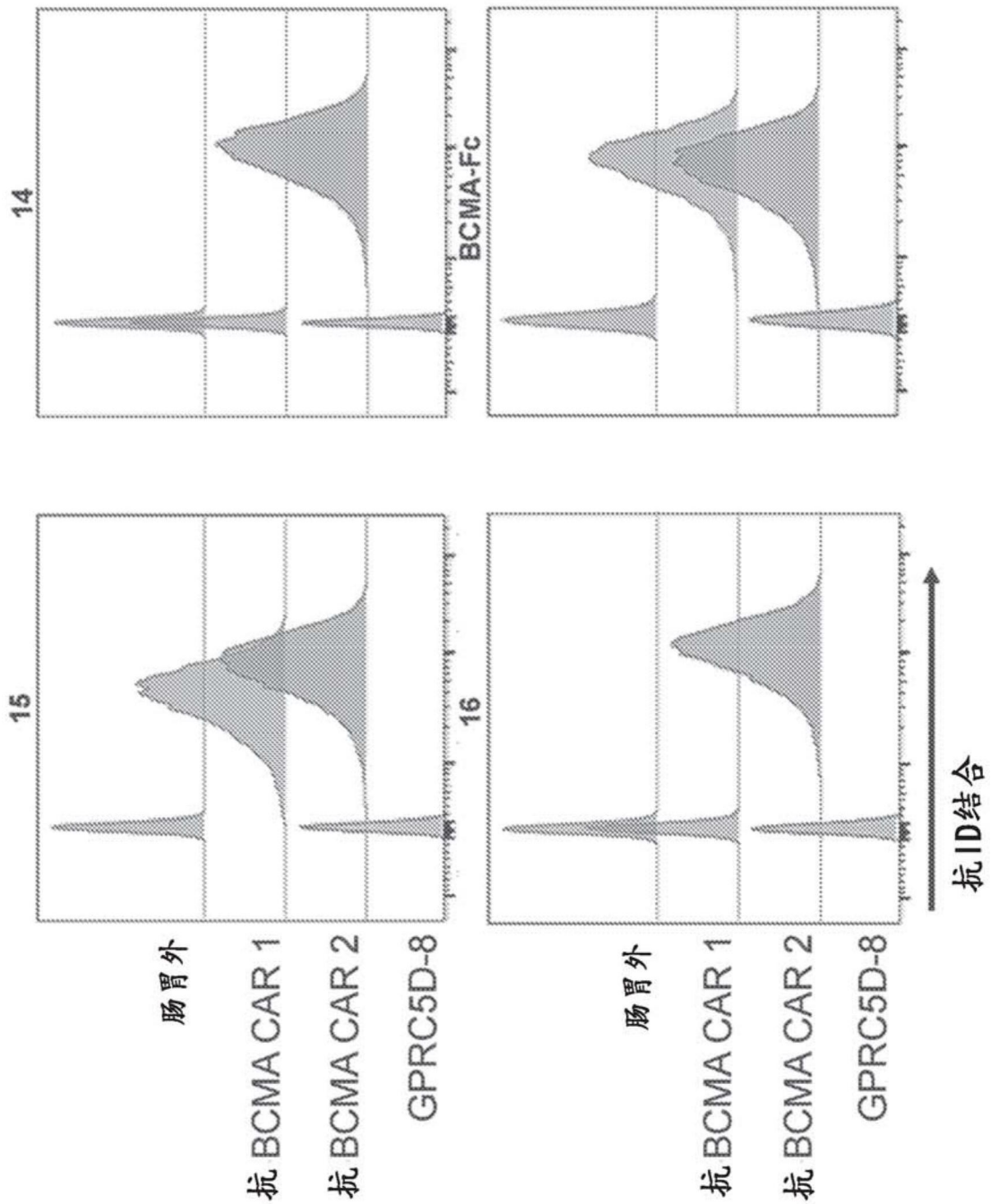



图3A

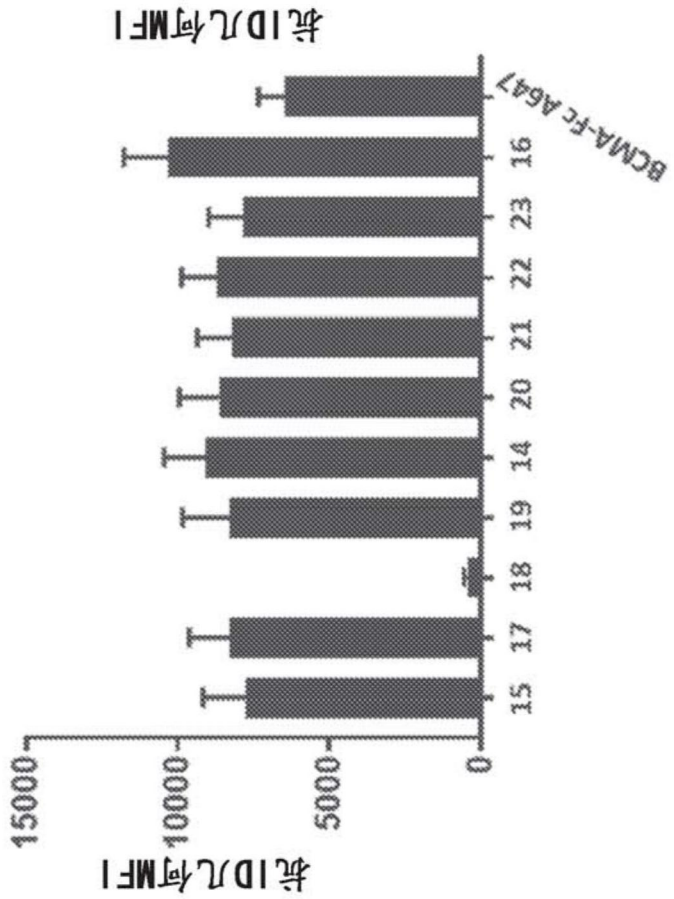

抗ID几何MFI
BCMA-Fc A647
16
23
22
21
20
14
19
18
17
15
15000
10000
5000
0
抗ID几何MFI

图3B

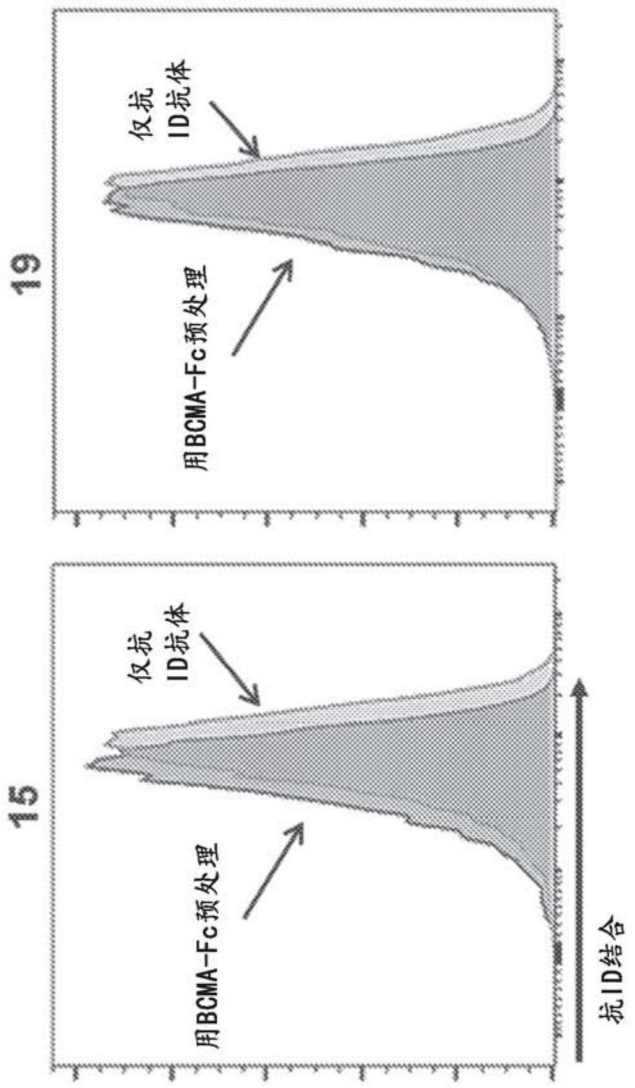



图4A

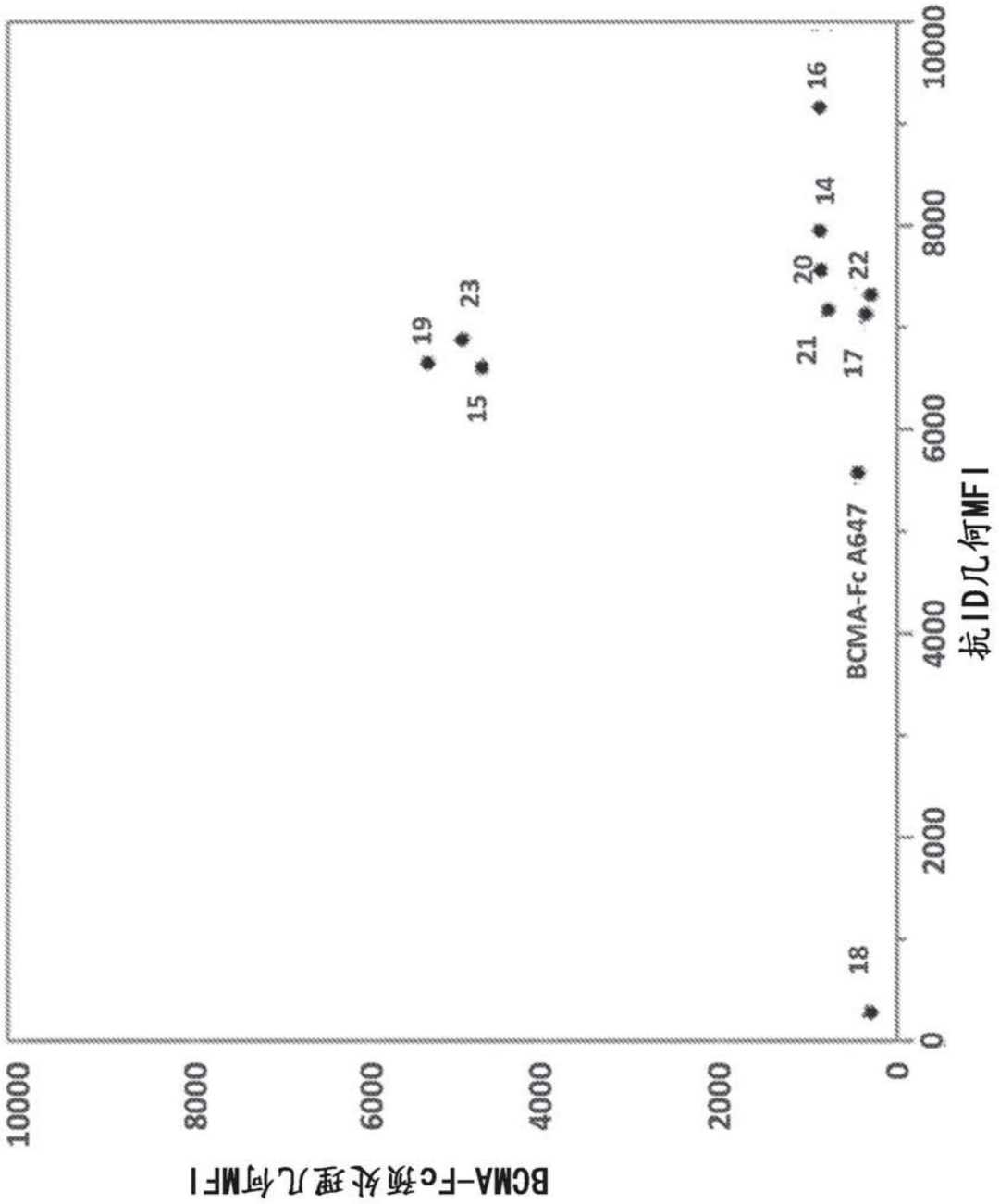

BCMA-Fc预处理几何MFI
抗ID几何MFI
0
2000
4000
6000
8000
10000
18
19
23
15
16
14
20
22
21
17
BCMA-Fc A647

图4B

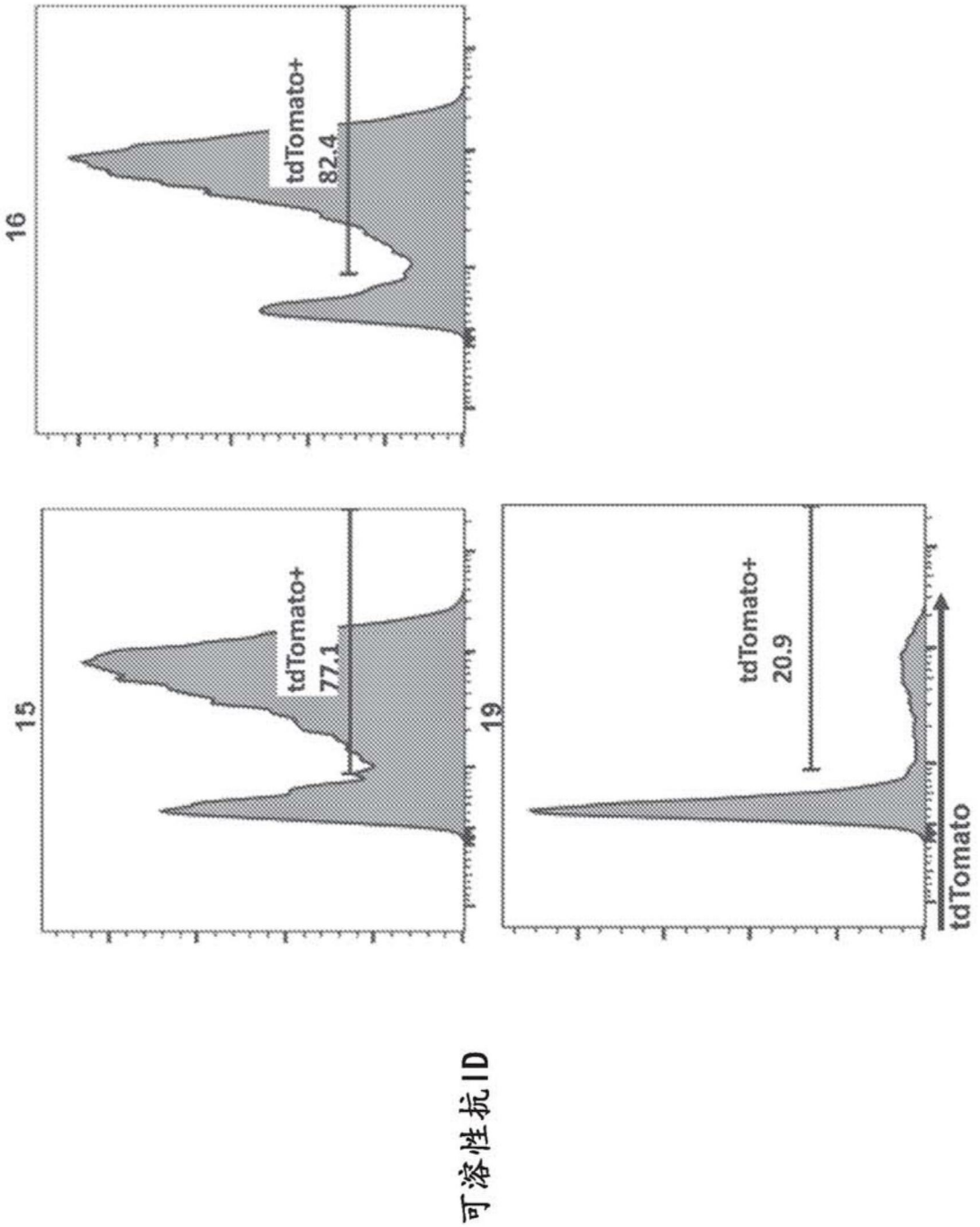

16
tdTomato+
82.4
15
tdTomato+
77.1
19
tdTomato+
20.9
tdTomato
可溶性抗ID

图5A

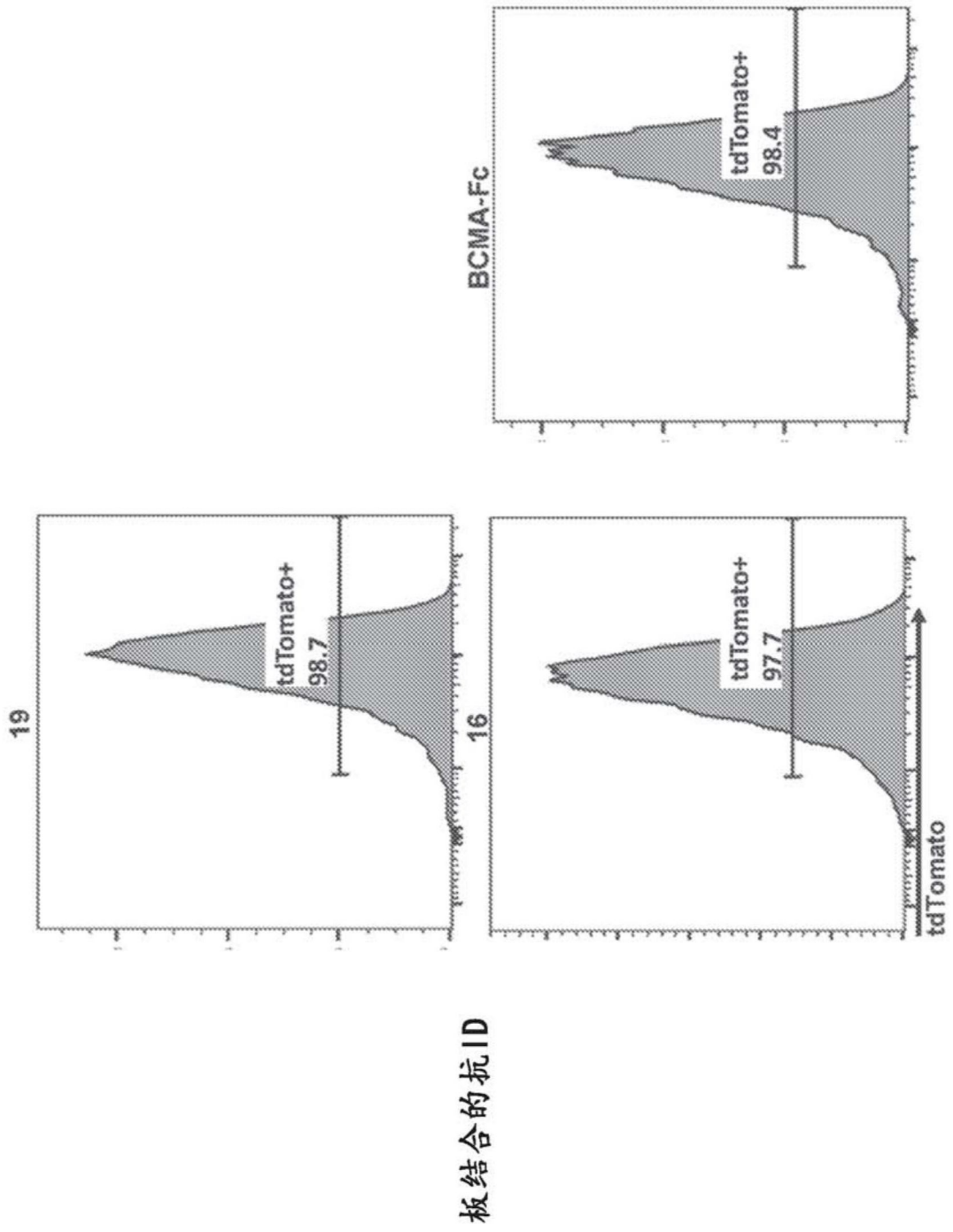

BCMA-Fc
tdTomato+
98.4
19
tdTomato+
98.7
16
tdTomato+
97.7
tdTomato
板结合的抗ID

图5B

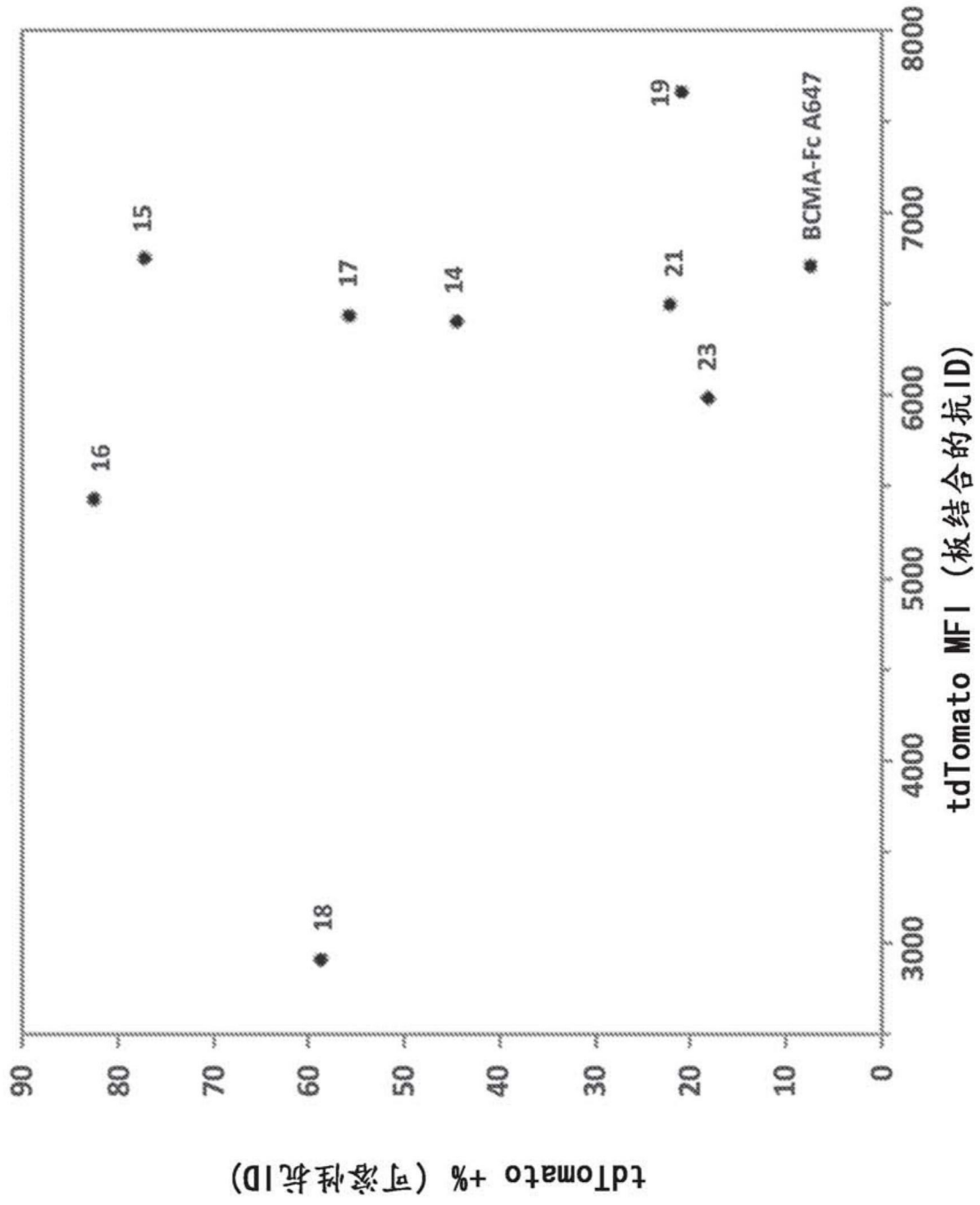

tdTomato MFI (板结合的抗ID)
tdTomato +% (可溶性抗ID)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
3000
4000
5000
6000
7000
8000
16
15
18
17
14
23
21
19
BCMA-Fc A647

图5C

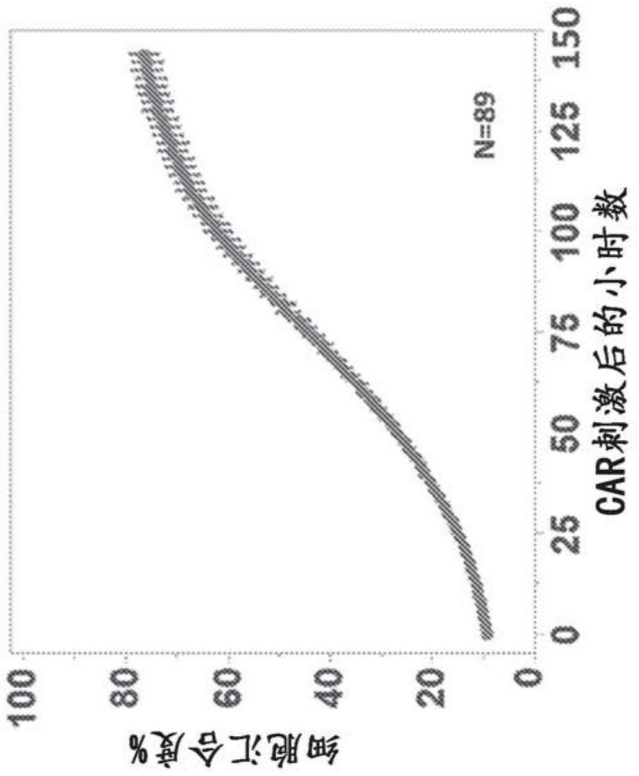



图6