



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I751102 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：104128254

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 08 月 27 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

C12N15/11 (2006.01)

C12N15/85 (2006.01)

A61K39/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2014/08/28 美國

62/043,273

2014/11/12 美國

62/078,942

(71)申請人：美商奇諾治療有限公司(美國) JUNO THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：陳 岩 CHEN, YAN (US)；夏曼 史帝夫 SHAMAH, STEVE (US)；帕茲曼尼 沙

巴 PAZMANY, CSABA (US)；杜塔 賽門斯 裘 DUTTA-SIMMONS, JUI (IN)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2009054863A2

WO 2009091826A2

審查人員：施雅儀

申請專利範圍項數：38 項 圖式數：17 共 256 頁

(54)名稱

對 CD 19 具專一性之抗體及嵌合抗原受體

(57)摘要

本發明提供 CD19 結合分子，包括抗 CD19 抗體，包括抗體片段，諸如單鏈片段；及包括該等抗體的嵌合受體，諸如嵌合抗原受體(CAR)。該等抗體為人類抗體，包括與參考抗體(諸如鼠類抗體)競爭結合至 CD19 的彼等物。在一些實施例中，該等抗體顯示與參考抗體類似的功能特性，諸如類似的結合親和力及/或競爭抑制特性。亦提供表現嵌合受體之經基因工程改造的細胞，及該等結合分子及細胞用於授受細胞療法的用途。

Provided are CD19 binding molecules, including anti-CD19 antibodies, including antibody fragments such as single-chain fragments, and chimeric receptors including the antibodies, such as chimeric antigen receptors (CARs). Among the antibodies are human antibodies, including those that compete for binding to CD19 with reference antibodies, such as murine antibodies. In some embodiments, the antibodies display similar functional properties to the reference antibodies, such as comparable binding affinities and/or competitive inhibition properties. Also provided are genetically engineered cells expressing the chimeric receptors, and uses of the binding molecules and cells adoptive cell therapy.

指定代表圖：

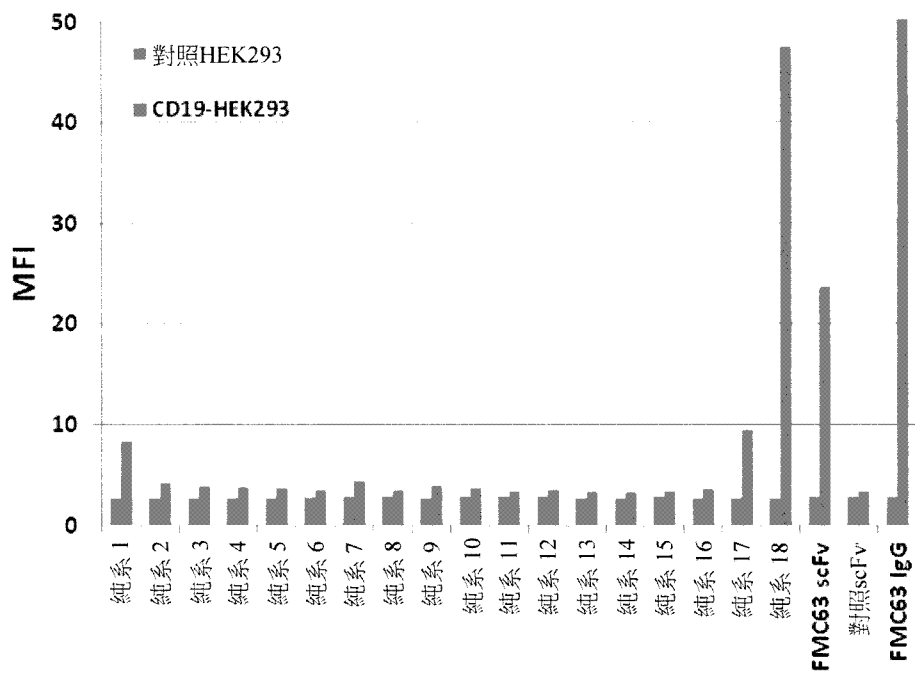


圖 1A

發明摘要

I751102

※ 申請案號：104128254

C07K 16/28 (2006.01)

※ 申請日：104年8月27日

C12N 15/11 (2006.01)

※IPC 分類：**C12N 15/85** (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

【發明名稱】

對CD19具專一性之抗體及嵌合抗原受體

ANTIBODIES AND CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS

SPECIFIC FOR CD19

【中文】

本發明提供CD19結合分子，包括抗CD19抗體，包括抗體片段，諸如單鏈片段；及包括該等抗體的嵌合受體，諸如嵌合抗原受體(CAR)。該等抗體為人類抗體，包括與參考抗體(諸如鼠類抗體)競爭結合至CD19的彼等物。在一些實施例中，該等抗體顯示與參考抗體類似的功能特性，諸如類似的結合親和力及/或競爭抑制特性。亦提供表現嵌合受體之經基因工程改造的細胞，及該等結合分子及細胞用於授受細胞療法的用途。

【英文】

Provided are CD19 binding molecules, including anti-CD19 antibodies, including antibody fragments such as single-chain fragments, and chimeric receptors including the antibodies, such as chimeric antigen receptors (CARs). Among the antibodies are human antibodies, including those that compete for binding to CD19 with reference antibodies, such as murine antibodies. In some embodiments, the antibodies display similar functional properties to the reference antibodies, such as comparable binding affinities and/or competitive inhibition properties. Also provided are genetically engineered cells expressing the chimeric receptors, and uses of the binding molecules and cells adoptive cell therapy.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1A）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

（無）

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

對CD19具專一性之抗體及嵌合抗原受體

ANTIBODIES AND CHIMERIC ANTIGEN RECEPTORS

SPECIFIC FOR CD19

相關申請案之交叉參考

本申請案主張2014年8月28日申請之美國臨時申請案第62/043,273號(名稱為「對CD19具專一性之抗體及嵌合抗原受體」)及2014年11月12日申請之美國臨時申請案第62/078,942號(名稱為「對CD19具專一性之抗體及嵌合抗原受體」)的優先權，其內容以全文引用之方式併入本文中。

序列表以引用之方式併入

本申請案與電子格式之序列表一起申請。序列表係作為2015年8月26日產生的名稱為735042000742seqlist.txt之檔案提供，其大小為120個千位元組。電子格式之序列表中之資訊以全文引用之方式併入本文中。

【技術領域】

本發明在一些態樣中係關於CD19結合分子，特定言之，抗CD19抗體，包括抗體片段。本發明進一步關於含有此類抗體的重組受體，包括含有此類抗體的嵌合抗原受體(chimeric antigen receptors；CAR)。本發明進一步關於表現此類受體及抗體的經基因工程改造之細胞，及其用於授受細胞療法(adoptive cell therapy)的用途。

【先前技術】

CD19表現於正常B細胞以及各種疾病及病狀(包括大部分B細胞惡

性疾病)的細胞及組織上。患有B細胞惡性疾病的大部分患者未經可用療法(包括靶向CD19及/或其他B細胞標記的療法)治癒。可獲得各種CD19結合分子，包括抗CD19抗體及含有抗CD19抗體部分的嵌合抗原受體；以及表現此類嵌合受體的細胞。需要改良之CD19結合分子及經工程改造之CD19靶向細胞。舉例而言，需要用於授受細胞療法中之具有降低之免疫原性的分子及細胞及/或人類抗體，包括專一性結合至CD19的抗體片段，以及表現此類人類抗體的嵌合受體。提供滿足此類需要的實施例。

【發明內容】

提供CD19結合分子，包括多肽，諸如抗CD19抗體，包括抗原結合性抗體片段，諸如單鏈片段，包括scFv片段；及含有此類抗體的多肽，包括融合蛋白、受體，例如重組受體，包括嵌合受體，諸如含有抗體作為抗原識別組分的嵌合抗原受體(CAR)。在特定實施例中，抗體是人類抗體，諸如人類單鏈片段，包括scFvs。

提供抗體或其抗原結合片段，包括專一性結合至CD19的彼等物。在一些實施例中，抗體含有特定互補決定區(CDRs)，包括重鏈CDR (CDR-Hs)及輕鏈CDR (CDR-Ls)。在一些實施例中，CDR具有或包括參考抗體之CDR胺基酸序列或其鏈或序列。

在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段包括重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區。在一些實施例中，抗體(例如其VH區)包括含有如SEQ ID NO: 20所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區3 (CDR-H3)。在一些實施例中，VH區包含與SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62中所述之VH區胺基酸序列至少或約90%序列一致性，例如與其至少或約91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性。在一些實施例中，抗體或片段包括SEQ ID NO: 18之CDR-H1及SEQ ID NO: 20之CDR-H3。在一些實施例中，抗體或片段進一步包括

包含SEQ ID NO: 81、82、19或72的CDR-H2序列。

在一些實施例中，抗體具有分別包括參考抗體重鏈可變(V_H)區內所含之CDR 1、2及3序列之胺基酸序列的CDR-H1、CDR-H2及/或CDR-H3。在一些實施例中，參考抗體之V_H區具有SEQ ID NO: 11或12中所述之胺基酸序列。在一些實施例中，其具有SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62中所述之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗體具有(例如進一步包括) CDR-L1、CDR-L2及/或CDR-L3，其分別包含參考抗體輕鏈可變(V_L)區內所含之CDR 1、2及3序列的胺基酸序列。在一些實施例中，參考抗體之V_L具有SEQ ID NO: 13、14、15、16或17中所述之胺基酸序列。在一些實施例中，參考抗體之V_L具有SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90或91。

在一些實施例中，參考抗體V_H或V_L內之CDR係指如藉由任何編號方案(例如本文所定義之編號方案)所定義的CDR。在一些實施例中，參考抗體或V_H或V_L中之CDR係指如藉由本文所述之Kabat編號方案所定義的CDR、如藉由本文所述之Chothia方案或本文所述之接觸方案所定義的CDR。

在一些實施例中，抗體含有包括CDR-H1、CDR-H2及/或CDR-H3的V_H鏈，其中CDR-H1包含胺基酸序列DYAMH (SEQ ID NO: 18)，或與SEQ ID NO: 18具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-H2包含胺基酸序列SEQ ID NO: 81或82或19或72，或與SEQ ID NO: 81或SEQ ID NO: 82或SEQ ID NO: 19或SEQ ID NO: 72具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；且/或CDR-H3包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20，或與SEQ ID NO: 20具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、

94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，抗體含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18的CDR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 81或82的CDR-H2，及包含如SEQ ID NO: 20所述之胺基酸序列的CDR-H3。

在一些實施例中，抗體具有包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 110)的CDR-1，其中 X_1 為T、W、S或R； X_2 為G或A； X_3 為I、T、D或S； X_4 為S、R、T或Q； X_5 為空或S； X_6 為空、D、N或G； X_7 為空、V或L； X_8 為X或空； X_9 為X或空； X_{10} 為X； X_{11} 為X； X_{12} 為Y、F、D或W； X_{13} 為V、A或L且 X_{14} 為S、N或A。舉例而言，在一些實施例中，抗體具有包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)的CDR-L1，其中 X_1 為T、Q、S或R； X_2 為G或A； X_3 為I、T、D或S； X_4 為S、R、T或Q； X_5 為空或S； X_6 為G、D、N或空； X_7 為空、V或L； X_8 為D、G、I、L、S或空； X_9 為S、G、A、I、R或空； X_{10} 為H、Y、F、S或N； X_{11} 為R、N、D、H或Y； X_{12} 為Y、F、D或W； X_{13} 為V、A或L；且 X_{14} 為S、N或A；及/或

包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 112)的CDR-L2，其中 X_1 為D或S； X_2 為F、V、N、K或A； X_3 為S、T、D或N； X_4 為K、V、N、Q或R； X_5 為R、V或L； X_6 為P、K、A或E；且 X_7 為S、P、A或T；及/或

包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 115)的CDR-L3，其中 X_1 為X； X_2 為S、Q、A或T； X_3 為Y、S、W、R； X_4 為A、D、R、T或Y； X_5 為X； X_6 為X； X_7 為S、P、L、Y、G； X_8 為X或空； X_9 為X或空； X_{10} 為L或空； X_{11} 為X；且 X_{12} 為V、T或L。舉例而言，在一些實施例中，抗體具有包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 114)的CDR-L3，其中 X_1

為S、G、T、A、Q、C或N；X₂為S、Q、A或T；X₃為Y、S、W、R；X₄為A、D、R、T或Y；X₅為A、S、P、G、N或D；X₆為I、S、G、T、A、L、H、R、N；X₇為S、P、L、Y、G；X₈為P、T、S、Q、M、R、N或空；X₉為S、L、N、A、M或空；X₁₀為L或空；X₁₁為Y、W、F、V、A或L；且X₁₂為V、T或L。

在一些此類實施例中，在該CDR-L1中，X₃為I、T或S；X₄為S、T或Q；X₈為D、G、I、S或空；X₉為S、G、I或空；X₁₀為H、Y、S或N；X₁₁為R、N、D或H；X₁₂為Y或D；且X₁₃為V或L；且/或在該CDR-L2中，X₁為D；X₄為K、V、N、Q或R；X₆為P、K或A；且X₇為S、A或T；且/或在該CDR-L3中，X₁為S、G、T、A、Q、C或N；X₅為A、S、P、G、N或D；X₆為I、S、G、T、A、L、H、R或N；X₈為P、T、S、Q、M、R、N或空；X₉為S、L、N、A、M或空；且X₁₁為Y、W、F、V、A或L。在一些實施例中，在該CDR-L3中，X₁為S、G、Q或N；X₂為S、Q或T；X₄為A、D、T或Y；X₅為A、S或G；且X₆為I、S、N、R、A、H或T。

在一些實施例中，CDR-H2包含SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)中所述之胺基酸序列；或CDR-H2包含SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG)中所述之胺基酸序列。

在一些實施例中，CDR-L1包含SEQ ID NO: 80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28或31中所述之胺基酸序列。在一些實施例中，CDR-L1包含SEQ ID NO: 80、77、74、73、78、21或28中所述之胺基酸序列。

在一些實施例中，CDR-L2包含SEQ ID NO: 100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29或32中所述之胺基酸序列。在一些實施例中，CDR-L2包含SEQ ID NO: 100、97、94、93、98、22或29中所述之胺基酸序列。

在一些實施例中，CDR-L3包含SEQ ID NO: 109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30或33中所述之胺基酸序列。在一些實施例中，CDR-L3包含SEQ ID NO: 109、106、103、101、107、24或30中所述之胺基酸序列。

在一些實施例中，CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 21、22及23或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 21、22及24或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 25、26及27或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 28、29及30或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 31、32及33或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 80、100及109或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 77、97及106或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 74、94及103或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或

99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 73、93及101或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 75、95及104或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 79、99及108或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 78、98及107或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 76、96及105或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 73、93及102或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 77、97及106或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，CDR-L3包含如SEQ ID NO: 116、117、118、119、120或121所述之胺基酸序列或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含序列

SEQ ID NO: 18、81及20或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含序列SEQ ID NO: 18、19及20或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含序列SEQ ID NO: 18、82及20或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含序列SEQ ID NO: 18、72及20或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，抗體具有包含胺基酸序列 $X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO: 36)的CDR-L1，其中 X_1 為T、S或Q， X_3 為T、S或D， X_4 為T或S， X_5 為空或S， X_6 為空、D或N， X_7 為空或V， X_8 為空、G或I， X_9 為空、G或R， X_{10} 為S、Y或N， X_{11} 為D或N， X_{12} 為D或Y， X_{13} 為V或A；包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4RPS$ (SEQ ID NO: 37)的CDR-L2，其中 X_1 為D或S， X_2 為V、N或K， X_3 為S、N或D且 X_4 為K、Q或N；及/或包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 113)的CDR-L3，其中 X_1 為C、S、A、G或N； X_2 為S、A或T； X_3 為Y、W或R； X_4 為A或D； X_5 為G、D或S； X_6 為R、S或N； X_7 為Y、L或G； X_8 為N或S； X_9 為S、N或空； X_{10} 為空； X_{11} 為V、A或W；且 X_{12} 為L或V。

在一些實施例中，抗體具有包含所述胺基酸序列 $X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO: 36)的ACDR-L1，其中 X_1 為T、S或Q， X_3 為T、S或D， X_4 為T或S， X_5 為空或S， X_6 為空、D或N， X_7 為空或V， X_8 為空、G或I， X_9 為空、G或R， X_{10} 為

S、Y或N，X11為D或N，X12為D或Y，X13為V或A；包含所述胺基酸序列X₁X₂X₃X₄RPS (SEQ ID NO: 37)的CDR-L2，其中X1為D或S，X2為V、N或K，X3為S、N或D且X4為K、Q或N；及/或包含胺基酸序列X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂ (SEQ ID NO: 38)的CDR-L3，其中X1為C、S、A、G或N，X2為S、A、或T，X3為Y、W或R，X4為A或D，X5為G、D或S，X6為R、S或N，X7為Y、L、或G，X8為N或S，X9為S或空，X10為V、A或N，X11為W或空，且X12為L或V。

在一些此類實施例中，在CDR-L1中，X1為T或S，X3為T或S，X11為D或N且X13為V；且/或在CDR-L2中，X2為V或N且X4為K或Q。

在一些實施例中，CDR-H2包含SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 19具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，CDR-L1包含SEQ ID NO: 21、25、28或31中所列之序列或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；且/或CDR-L2包含SEQ ID NO: 22、26、29或32中所列之序列或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；且/或CDR-L3包含SEQ ID NO: 23、24、27、30或33中所列之序列或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，CDR-L1、CDR-L2及/或CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 21、22及/或23或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列

一致性的序列。

在一些實施例中，CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 21、22及24，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，CDR-L1、CDR-L2及/或CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 25、26及27或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 28、29及30，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。在一些實施例中，CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 31、32及33，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，重鏈及輕鏈CDR為前述CDR-L與CDR-H序列(包括與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列)之任何組合。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VH區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VH區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO:

13或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VH區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 60或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VH區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 61或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VH區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VH區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VH區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 71或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 90或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 91或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 68或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 65或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 64或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 66或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 70或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 69或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段含有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 67或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性之序列的VL區。

在特定實施例中，抗體或片段之VH區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11、60、63或62或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；且/或抗體或片段之VL區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14、16、71、90、65、64或69或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12及17，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12及15，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及13，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及14，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、

95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及16，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63及71，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62及68，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及65，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 60及64，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 61及66，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63及70，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62及69，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12及

67，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12及91，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；或

抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63及90，或分別與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 11且VL區包含SEQ ID NO: 13；在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 11且VL區包含SEQ ID NO: 14；在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 11且VL區包含SEQ ID NO: 15；在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 11且VL區包含SEQ ID NO: 16，或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 11且VL區包含SEQ ID NO: 17，或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 12且VL區包含SEQ ID NO: 13；在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 12且VL區包含SEQ ID NO: 14；在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 12且VL區包含SEQ ID NO: 15；在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 12且VL區包含SEQ ID NO: 16，或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列；在一些實施例中，VH區包含SEQ ID NO: 12且VL區包含SEQ ID NO: 16，或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，抗體為單鏈片段，諸如其中兩個或兩個以上可變區經一或多個柔性免疫球蛋白連接子連接的單鏈片段。在一些實施例中，抗體為scFv。在一些實施例中，scFv包含絲胺酸及/或甘胺酸中富含的連接子，諸如包含GGGS (SEQ ID NO: 122)或GGGGs (SEQ ID NO: 123)重複的連接子，諸如包含SEQ ID NO: 34所述之序列的連接子。在一些實施例中，連接子包含序列SEQ ID NO: 43。

在一些實施例中，抗體片段(例如scFv)含有V_H區或其一部分，隨後為連接子，隨後為V_L或其一部分。在一些實施例中，抗體片段(例如scFv)含有V_L區或其一部分，隨後為連接子，隨後為V_H區或其一部分。

在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO: 2、4、6、8或10中所述之胺基酸序列，或與其具有至少或至少約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%胺基酸序列一致性的序列。

在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89中所述之胺基酸序列，或具有與此序列至少或約90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%一致的序列。

在一些實施例中，該抗體或片段專一性結合至與參考抗體所專一性結合之抗原決定基相同、相似及/或重疊的CD19抗原決定基，且/或該抗體與參考抗體競爭結合至CD19。在一些態樣中，參考抗體為鼠類或嵌合或人類或人類化抗CD19抗體FMC63、SJ25C1，一種具有可變區序列SEQ ID NO: 39及/或40的抗體，或具有可變區序列SEQ ID NO: 41及/或42的抗體。在一些態樣中，參考抗體為包括如本文所述之序列、包括任一前述實施例之序列的抗體。舉例而言，在一些實施例中，參考抗體可為含有SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89中所述之胺基酸序列的scFv。在一

些實施例中，所提供的抗體或片段含有不同於參考抗體中之CDR的一或多個或全部CDR。舉例而言，在一些實施例中，所提供的抗體或片段含有不同於命名為FMC63或SJ25C1之抗體中之相應CDR的一或多個或全部CDR。

舉例而言，提供人類抗體及抗原結合片段，其專一性結合至與參考抗體(諸如FMC63、SJ25C1，一種具有可變區序列SEQ ID NO: 39及/或40的抗體，或具有可變區序列SEQ ID NO: 41及/或42的抗體)所專一性結合之抗原決定基相同或重疊的CD19抗原決定基，且包含不同於參考抗體中存在之CDR的重鏈及輕鏈CDR。

在一些實施例中，舉例而言，該抗體與參考抗體競爭結合的程度至少和參考抗體與自身競爭結合至CD19的程度相同，或競爭程度比參考抗體的競爭程度低不超過1.5倍或2倍、3倍、4倍、5倍或10倍，且/或IC50量測值比與自身競爭結合之參考抗體的IC50高不超過1.5倍或2倍或3倍或4倍或5倍或10倍，如在相同分析中所量測。

在一些實施例中，該抗體對CD19的結合親和力至少與參考抗體對CD19的結合親和力一樣高或實質上一樣高。在一些態樣中，該抗體結合親和力之EC50大致相同於或低於參考抗體EC50或比參考抗體EC50大不超過約1.5倍或不超過約2倍、不超過3倍及/或不超過10倍。在一些實施例中，抗體的結合親和力係與相應形式的參考抗體相比較。比較通常利用相同或類似分析進行。

在一些任何此類實施例中，CD19為人類CD19。在一些任何此類實施例中，抗體或片段專一性結合人類CD19，對人類CD19展現結合親和力且/或競爭結合至人類CD19。

在一些實施例中，抗體為人類抗體。在一些實施例中，抗體為重組抗體。在一些實施例中，抗體為單株抗體。在一些實施例中，抗體為分離抗體。

在一些實施例中，抗體或片段進一步包括免疫球蛋白恆定區之至少一部分。恆定區可包括人類或其他抗體及任何種類之CH1、CH2、CH3及/或CH4及/或CL中之任一者或多者，包括IgG、IgM、IgA、IgE及IgD（例如包括人類IgG，例如IgG1或IgG4）恆定區結構域。在一些實施例中，恆定區包含Fc區或為Fc區，諸如人類IgG Fc區。

亦提供諸如嵌合及/或融合分子之分子，包括受體，諸如重組受體，其包括任一實施例之抗體（例如含於胞外域中或胞外域之一部分）及其他域，諸如細胞內信號傳導域、間隔子、連接子及/或跨膜域。在一些實施例中，受體為嵌合抗原受體，包含含有任一實施例之抗體或片段的細胞外部分及細胞內信號傳導域。

在一些實施例中，抗體或片段包含scFv。在一些實施例中，細胞內信號傳導域包含ITAM及/或信號傳導域，其能夠遞送信號接近含有ITAM之分子或受體複合物（諸如TCR受體複合物）之天然接點。在一些態樣中，細胞內信號傳導域包含CD3- ξ （CD3 ζ ）鏈之 ξ 鏈的信號傳導域。

在一些實施例中，受體進一步包括一或多個域，諸如跨膜域，包括連接胞外域與細胞內信號傳導域的抗體跨膜域。在一些態樣中，跨膜域包含共刺激分子（諸如T細胞共刺激分子，例如CD28及/或41BB）的跨膜部分。在一些實施例中，T細胞共刺激分子係選自由CD28及41BB組成之群，且在一些實施例中，受體包括CD28及41BB的信號傳導域。

亦提供編碼任一實施例之抗體（包括片段）或任一實施例之受體（例如嵌合抗原受體）的核酸、包括此類核酸的載體，及含有該等載體及/或核酸、例如用於表現抗體及/或分子的細胞。

因此，亦提供用於產生及表現分子（包括抗體及諸如受體之分

子，例如嵌合抗原受體(CAR))的細胞及載體。舉例而言，提供表現任一實施例之嵌合抗原受體的經工程改造之細胞。在一些態樣中，細胞為T細胞。在一些態樣中，細胞為NK細胞。在一些態樣中，細胞為幹細胞。

亦提供包含抗體、受體、分子及/或細胞的組合物，包括醫藥組合物，例如進一步包括醫藥學上可接受之物質，諸如載劑。

亦提供投藥方法，包括治療方法，其係藉由向例如個體投與有效量(例如治療有效量)的任一實施例之細胞、抗體、受體、組合物或其他分子。在一些實施例中，個體患有或懷疑患有與CD19相關的疾病或病症，諸如B細胞惡性疾病，諸如B細胞慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)、前淋巴細胞白血病、毛細胞白血病、常見急性淋巴細胞性白血病、無標記急性淋巴母細胞性白血病、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin lymphomas)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCLs)、多發性骨髓瘤、濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、惰性B細胞淋巴瘤，或霍奇金氏淋巴瘤，或牽涉B細胞的自體免疫或發炎疾病。

在一些實施例中，抗體或受體的投與係與較低程度的免疫原性(相較於與該抗體競爭結合或結合至重疊抗原決定基之參考抗體(或含有參考抗體的受體)的投與)相關。在一些態樣中，參考抗體為人類化、嵌合或非人類抗體。

【圖式簡單說明】

圖1：圖1A及1B顯示結合分析的結果，其對例示性人類scFvs結合至表現CD19之HEK293細胞與結合至不表現CD19之HEK293細胞進行了比較。MFI=平均螢光強度。

圖2顯示評估例示性抗CD19抗體(scFv片段)之純化的SDS凝膠分析。

圖3：圖3A、3B及3C顯示評估各種例示性scFv抗體(scFv片段)(包括抗CD19抗體)之結合親和力的研究結果。MFI=平均螢光強度。

圖4顯示評估各種例示性scFv抗體(包括抗CD19 scFv抗體片段)之結合親和力的研究結果。MFI=平均螢光強度。

圖5：圖5A及5B顯示競爭性結合分析的結果，其評估各別經標記之抗體在不同濃度之競爭性抗體存在下的結合。MFI=平均螢光強度。

圖6顯示競爭性結合分析的結果，其評估經標記之參考scFv抗體在不同濃度之競爭性scFv抗體存在下的結合。MFI=平均螢光強度。

圖7：圖7A顯示尺寸排阻層析的結果；校準管柱，注射標準蛋白質，且收集溶離份以產生參考物。圖7B顯示將抗CD19 scFv (純系18B)注射至同一管柱中且在相同條件下收集溶離份之後的結果。

圖8A依如下之自僅細胞左向右次序顯示評估例示性人類scFv純系結合至表現CD19之細胞的結合分析結果：僅細胞、模擬上清液(Moc. Supe.)、陰性對照抗體(Neg. Ctrl.)、純系18、純系200至287、僅細胞、Moc. Supe、Neg. Ctrl.及純系18。顯示CD19專一性結合的例示性成功結果(由星號指示)為(依自左向右之次序)：純系213、純系227、純系241、純系255、純系272、純系278、純系283及純系285。MFI=平均螢光強度。

圖8B依如下自左向右之次序顯示評估例示性人類scFv純系結合至表現CD19之細胞的結合分析結果：僅細胞、模擬上清液(Moc. Supe.)陰性對照抗體(Neg. Ctrl.)、純系18B、純系300-387、僅細胞、Moc.Supe.、Neg.Ctrl.及純系18B。顯示CD19專一性結合的例示性成功結果(由星號指示)為(依自左向右之次序)：純系302、純系305、純系313、純系314、純系318、純系324、純系327、純系328、純系336、純系339、純系377、純系379及純系382。MFI=平均螢光強度。

圖8C依如下自左向右之次序顯示評估例示性人類scFv純系結合至表現CD19之細胞的結合分析結果：僅細胞、模擬上清液(Moc. Supe.)陰性對照抗體(Neg. Ctrl.)、純系18B、純系400-487、僅細胞、Moc.Supe.、Neg.Ctrl.及純系18B。顯示CD19專一性結合的例示性成功結果(由星號指示)為(依自左向右之次序)：純系440及純系448。

圖8D顯示結合分析結果，其對例示性人類scFvs結合至表現CD19之K562細胞與不表現CD19之K562細胞進行了比較。MFI=平均螢光強度。

圖9顯示評估例示性抗CD19抗體(scFv片段)之純化的SDS凝膠分析。

圖10：圖10A-E顯示評估各種例示性scFv抗體(包括抗CD19 scFv抗體片段)之結合親和力的單獨結合分析結果。MFI=平均螢光強度。

圖11顯示競爭性結合分析的結果，其評估經標記之參考scFv抗體在不同濃度之競爭性scFv抗體存在下的結合。MFI=平均螢光強度。

圖12A顯示呈VH-VL (HL)取向(HL；黑線)或VL-VH取向(LH；灰線)之各種CAR在經轉導之CD8⁺ T細胞中的細胞表面表現，如富集之前(前)及使用抗EGFR抗體分選且藉由CD19⁺ B-LCL刺激擴增而富集之後(後)根據細胞對EGFRt之表現所量測。

圖12B顯示評估例示性人類抗CD19 CARs在經轉導之初始人類T細胞中之表現的SDS凝膠分析。

圖13A及13B顯示表現各種抗CD19專一性CAR之初始人類CD8⁺ T細胞針對表現CD19之細胞的細胞溶解活性。C為單獨EGFRt (陰性對照物)；FM為FMC63 scFv CAR，18為純系18 scFv CAR，17為純系17 scFv CAR，76為純系76 scFv CAR，5為純系5 scFv CAR且18B為純系18B scFv CAR。

圖14A及圖14B顯示表現各種抗CD19專一性CAR之初始人類CD8⁺

T細胞與表現CD19之細胞共培養之後的細胞激素分泌。C為單獨EGFRt (陰性對照物)；FM為FMC63 scFv CAR，18為純系18 scFv CAR，17為純系17 scFv CAR，76為純系76 scFv CAR，5為純系5 scFv CAR且18B為純系18B scFv CAR。

圖15顯示表現各種抗CD19專一性CARs之初始人類CD4⁺ T細胞與表現CD19之細胞共培養之後的細胞激素分泌。C為單獨EGFRt (陰性對照物)；FM為FMC63 scFv CAR，18為純系18 scFv CAR，17為純系17 scFv CAR，76為純系76 scFv CAR，5為純系5 scFv CAR且18B為純系18B scFv CAR。

圖16A及16B顯示針對表現CD19之細胞之分別表現各種抗CD19專一性CARs之初始人類CD8⁺ T細胞或CD4⁺ T細胞在與表現CD19之細胞共培養之後的增殖。

圖17：圖17A顯示表現各種抗CD19專一性CARs之初始人類CD8⁺ T細胞在投與移植有表現螢火蟲螢光素酶之Raji細胞之NSG小鼠後的抗腫瘤活性。圖17B顯示以1:1比率投與移植有Raji細胞之NSG小鼠之表現各種抗CD19專一性CARs之初始人類CD4⁺及CD8⁺ T細胞的抗腫瘤活性。

【實施方式】

提供CD19結合分子，包括抗體(包括抗原結合性抗體片段，諸如單鏈片段，包括scFvs)及重組受體，包括含有此類抗體及片段的嵌合受體；編碼此類抗體及片段之核酸；及表現且用於產生此等抗體及片段的細胞，諸如重組細胞。亦提供製備及使用抗體及片段的方法以及表現或含有抗體及片段的細胞。

I. CD19結合分子

在一些態樣中提供CD19結合分子，諸如CD19結合多肽。此類結合分子包括專一性結合至CD19 (諸如人類CD19分子)的抗體，包括其

抗原結合片段。含有此類抗體的重組受體(諸如嵌合抗原受體)亦為結合分子之一。

A. CD19抗體

提供抗CD19抗體，包括功能性抗體片段，包括包含可變重鏈及可變輕鏈的抗體片段，諸如scFvs。亦提供含有此類抗體的分子，例如融合蛋白及/或重組受體，諸如嵌合受體，包括抗原受體。人類抗體為所提供之抗CD19抗體之一。在一些實施例中，抗體(諸如人類抗體)專一性結合至CD19之特定抗原決定基或區域，通常為細胞外抗原決定基或區域。在一些實施例中，抗體結合的CD19抗原決定基或區域與另一種抗體(諸如一或多種小鼠抗體FMC63或SJ25C1)所結合的CD19抗原決定基或區域相同或類似。在一些實施例中，抗體結合至與此等已知抗體之一所結合重疊的CD19抗原決定基且/或與此類抗體競爭結合。抗體包括分離抗體。分子包括分離分子。

本文中術語「抗體」係在最廣泛的意義上使用且包括多株及單株抗體，包括完整抗體及功能性(抗原結合)抗體片段，包括抗原結合片段(Fab)片段、F(ab')₂片段、Fab'片段、Fv片段、重組IgG (rIgG)片段、單鏈抗體片段，包括單鏈可變片段(scFv)，及單域抗體(例如sdAb、sdFv、奈米抗體)片段。該術語涵蓋免疫球蛋白之經基因工程改造及/或以其他方式修飾之形式，諸如胞內抗體、肽體、嵌合抗體、完全人類抗體、人類化抗體，及異結合抗體、多特異性(例如雙特異性)抗體、雙功能抗體、三功能抗體及四功能抗體、串聯二-scFv、串聯三-scFv。除非另有說明，否則術語「抗體」應理解為涵蓋其功能性抗體片段。該術語亦涵蓋完整或全長抗體，包括任何種類或子類的抗體，包括IgG及其子類、IgM、IgE、IgA及IgD。

與「高變區」或「HVR」同義的術語「互補決定區」及「CDR」在此項技術中已知係指抗體可變區內之非鄰接胺基酸序列，

其賦予抗原專一性及/或結合親和力。一般而言，各重鏈可變區中存在三個CDR (CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)且各輕鏈可變區中存在三個CDR (CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。「構架區」及「FR」在此項技術中已知係指重鏈及輕鏈可變區的非CDR部分。一般而言，各全長重鏈可變區中存在四個FR (FR-H1、FR-H2、FR-H3及FR-H4)，且各全長輕鏈可變區中存在四個FR (FR-L1、FR-L2、FR-L3及FR-L4)。

所指定CDR或FR之確切胺基酸序列邊界可容易使用多種熟知方案中的任一者確定，包括以下文獻中所述之方案：Kabat等人(1991), 「Sequences of Proteins of Immunological Interest,」第5版，公眾健康服務署(Public Health Service)，國家健康研究院(National Institutes of Health), Bethesda, MD (「Kabat」編號方案)；Al-Lazikani等人, (1997) JMB 273,927-948 (「Chothia」編號方案)；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.」(「接觸」編號方案)；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」編號方案)；及Honegger A及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」編號方案)。

所指定CDR或FR的邊界可根據鑑別所用的方案而變化。舉例而言，Kabat方案係基於結構比對，而Chothia方案係基於結構資訊。Kabat與Chothia方案的編號均基於最共同抗體區域序列長度，一些抗體中容納有由插入字母(例如「30a」)表示的插入且出現缺失。兩種方案使得某些插入及缺失(「插入缺失」)位於不同位置，產生不同編

號。接觸方案係基於複合物晶體結構的分析且在多個方面與Chothia編號方案類似。

下表1列舉了CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3及CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3的例示性位置邊界，如分別藉由Kabat、Chothia及接觸方案所鑑別。CDR-H1的殘基編號均使用Kabat與Chothia編號方案列出。FRs位於CDR之間，例如FR-L1位於CDR-L1與CDR-L2之間等。應注意由於所示Kabat編號方案使得插入位於H35A及H35B，因此Chothia CDR-H1環的末端當使用所示Kabat編號約定編號時在H32與H34之間變化，此視環長度而定。

表1

CDR	Kabat	Chothia	接觸
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編號 ¹)	H31--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
CDR-H1 (Chothia編號 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, 公眾健康服務署, 國家健康研究院, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani等人, (1997) JMB 273,927-948

因此，除非另外說明，否則所指定抗體或其區域(諸如其可變區)之「CDR」或「互補決定區」或個別特定CDR (例如「CDR-H1、CDR-H2」)應理解為涵蓋如藉由任一前述方案所定義的互補決定區(或特定互補決定區)。舉例而言，在陳述特定CDR (例如CDR-H3)在所指定的V_H或V_L胺基酸序列中含有相應CDR之胺基酸序列的情況下，應瞭解此CDR在可變區內具有相應CDR (例如CDR-H3)之序列，如藉由任一前述方案所定義。在一些實施例中，說明特定CDR序列。

同樣，除非另外說明，否則所指定抗體或其區域(諸如其可變區)之FR或個別特定FR (例如FR-H1、FR-H2)應理解為涵蓋如藉由任一已知方案所定義的構架區(或特定構架區)。在一些情況下，說明用於鑑別特定CDR、FR或FRs或CDRs的方案，諸如藉由Kabat、Chothia或接觸方法所定義的CDR。在其他情況下，指定CDR或FR的特定胺基酸序列。

術語「可變區」或「可變域」係指涉及抗體結合至抗原的抗體重鏈或輕鏈域。原生抗體之重鏈及輕鏈(分別為 V_H 及 V_L)的可變域通常具有類似結構，其中各域包含四個保守性構架區(FRs)及三個CDRs。(參見例如Kindt等人，Kuby Immunology, 第6版, W.H. Freeman and Co., 第91頁 (2007)。單一 V_H 或 V_L 域可足以賦予抗原結合專一性。此外，可使用來自結合抗原之抗體的 V_H 或 V_L 域分離結合特定抗原之抗體以分別篩選互補 V_L 或 V_H 域之庫。參見例如Portolano等人，J. Immunol. 150:880-887 (1993)；Clarkson等人，Nature 352:624-628 (1991)。

抗體片段為所提供之抗體之一。「抗體片段」係指除完整抗體之外之分子，其包含完整抗體之一部分，結合完整抗體所結合之抗原。抗體片段之實例包括(但不限於) F_v 、Fab、Fab'、Fab'-SH、 $F(ab')_2$ ；雙功能抗體；線性抗體；單鏈抗體分子(例如scFv)；及由抗體片段形成之多特異性抗體。在特定實施例中，抗體為包含重鏈可變區及/或輕鏈可變區的單鏈抗體片段，諸如scFvs。

單域抗體為包含抗體之重鏈可變域之全部或一部分或輕鏈可變域之全部或一部分的抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體。

抗體片段可藉由各種技術製得，包括(但不限於)完整抗體之蛋白分解消化以及由重組宿主細胞產生。在一些實施例中，抗體為重組產

生之片段，諸如包含非天然存在之排列的片段，諸如其中兩個或兩個以上抗體區域或鏈經合成連接子(例如肽連接子)連接的片段，及/或不能藉由天然存在之完整抗體之酶消化產生的片段。在一些態樣中，抗體片段為scFvs。

「人類化」抗體為一種抗體，其中全部或實質上全部CDR胺基酸殘基均來源於非人類CDRs且全部或實質上全部FR胺基酸殘基均來源於人類FRs。人類化抗體視情況可包括來源於人類抗體之抗體恆定區之至少一部分。非人類抗體的「人類化形式」係指非人類抗體變異體，其典型地已經受人類化以降低針對人類之免疫原性，同時保持親本非人類抗體的專一性及親和力。在一些實施例中，人類化抗體中的一些FR殘基經來自非人類抗體(例如CDR殘基所來源之抗體)之相應殘基取代，以例如恢復或改良抗體專一性或親和力。

人類抗體為所提供之抗CD19抗體之一。「人類抗體」為具有對應於人類或人類細胞所產生之抗體之胺基酸序列的胺基酸序列或具有使用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列(包括人類抗體庫)之非人類來源的抗體。該術語不包括包含非人類抗原結合區之非人類抗體的人類化形式，諸如其中全部或實質上全部CDR為非人類CDR的彼等物。

人類抗體可藉由將免疫原投與已經改造可回應於抗原攻毒而產生完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體的轉殖基因動物來製備。此類動物典型地含有人類免疫球蛋白基因座的全部或一部分，其置換內源性免疫球蛋白基因座，或存在於染色體外或隨機整合至動物染色體中。在此類轉殖基因動物中，內源性免疫球蛋白基因座通常已不活化。人類抗體亦可來源於人類抗體庫，包括噬菌體呈現文庫及無細胞庫，其含有來源於人類譜系的抗體編碼序列。

單株抗體(包括單株抗體片段)為所提供之抗體之一。如本文所用，術語「單株抗體」係指一種獲自或屬於實質上均質抗體群體的抗

體，亦即構成該群體之個別抗體為相同的，但其中可能變異體含有天然存在之突變或在製造單株抗體製劑期間產生之突變，此類變異體通常以少量存在。與典型地包括針對不同抗原決定基之不同抗體的多株抗體製劑相比，單株抗體製劑之各單株抗體係針對抗原上之單一抗原決定基。該術語不應理解為需要藉由任何特定方法產生抗體。單株抗體可藉由多種技術製得，包括(但不限於)自融合瘤產生、重組DNA方法、噬菌體呈現及其他抗體呈現方法。

術語「多肽」與「蛋白質」可互換使用且係指胺基酸殘基聚合物，且不限於最小長度。多肽(包括所提供之抗體及抗體鏈及其他肽，例如連接子及CD19結合肽)可包括胺基酸殘基，包括天然及/或非天然胺基酸殘基。術語亦包括多肽之表現後修飾，例如糖基化、唾液酸化、乙醯化、磷酸化及類似修飾。在一些態樣中，多肽可含有相對於原生或天然序列的修飾，只要蛋白質維持所要活性。此等修飾可為有意的，如經由定點突變誘發；或可為偶然的，諸如經由產生蛋白質之宿主的突變或由於PCR擴增所引起的錯誤。

例示性抗CD19抗體

在一些實施例中，抗CD19抗體(例如抗原結合性抗體片段)含有特定的重鏈及/或輕鏈CDR序列及/或重鏈及/或輕鏈可變(V_H 或 V_L)區序列。具有與此序列至少或約90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%一致之序列的抗體亦為所提供之抗體之一。

在一些實施例中，抗體(例如其抗原結合片段)包括包含存在於參考抗體中(諸如存在於含有具有SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62中所述之胺基酸序列之 V_H 區的參考抗體中)之CDR-H3之胺基酸序列的重鏈互補決定區3 (CDR-H3)。在一些實施例中，CDR-H3包含SEQ ID NO: 20。在一些實施例中，抗體(例如其抗原結合片段)具有與參考抗體之 V_H 區胺基酸序列(諸如與SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或

62中所述之VH區胺基酸序列)至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致(或與其100%一致)的VH區。

在一些實施例中，CDR-H1含有胺基酸序列DYAMH (SEQ ID NO: 18)，CDR-H2含有胺基酸序列GISWNSGRIG (SEQ ID NO: 81)、GISWNSGSIG (SEQ ID NO: 82)、SEQ ID NO: 19中所述之胺基酸序列(GISWNSGRIGYADSVKG)，或SEQ ID NO: 72中所述之胺基酸序列(GISWNSGSIGYADSVKG)，且/或CDR-H3含有胺基酸序列SEQ ID NO: 20。

在一些實施例中，所提供的抗體含有具有胺基酸序列SEQ ID NO: 20的CDR-H3。

在一些實施例中，抗體含有具有SEQ ID NO: 11或12中所述之胺基酸序列的V_H，或具有與此序列至少或約90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%一致的序列。在一些實施例中，抗體(例如其抗原結合片段)含有具有SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62中所述之胺基酸序列的VH區，或與此序列至少或約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的序列。

在一些實施例中，抗體含有SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62之殘基1-119之序列或包含SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62之一部分的序列，包括前三個構架區及三個重鏈CDR。

在一些實施例中，抗CD19抗體包括分別具有CDR 1、2及/或3序列之胺基酸序列的輕鏈互補決定區1、2及/或3 (CDR-L1、CDR-L2及/或CDR-L3)，該等胺基酸序列包含於SEQ ID NO: 13、14、15、16或17中或SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69或67中所述之輕鏈可變(V_L)區胺基酸序列內。

在一些實施例中，抗CD19抗體包括CDR-L1、CDR-L2及/或CDR-L3，其中：

在一些實施例中，CDR-L1含有胺基酸序列：
 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 110)，其中 X_1 為T、W、S或R； X_2 為G或A； X_3 為I、T、D或S； X_4 為S、R、T或Q； X_5 為空或S； X_6 為空、D、N或G； X_7 為空、V或L； X_8 為X或空； X_9 為X或空； X_{10} 為X； X_{11} 為X； X_{12} 為Y、F、D或W； X_{13} 為V、A或L且 X_{14} 為S、N或A。舉例而言，在一些實施例中，CDR-L1含有胺基酸序列
 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)，其中 X_1 為T、Q、S或R； X_2 為G或A； X_3 為I、T、D或S； X_4 為S、R、T或Q； X_5 為空或S； X_6 為G、D、N或空； X_7 為空、V或L； X_8 為D、G、I、L、S或空； X_9 為S、G、A、I、R或空； X_{10} 為H、Y、F、S或N； X_{11} 為R、N、D、H或Y； X_{12} 為Y、F、D或W； X_{13} 為V、A或L；且 X_{14} 為S、N或A。

在一些實施例中，CDR-L2含有胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ (SEQ ID NO: 112)，其中 X_1 為D或S； X_2 為F、V、N、K或A； X_3 為S、T、D或N； X_4 為K、V、N、Q或R； X_5 為R、V或L； X_6 為P、K、A或E；且 X_7 為S、P、A或T。

在一些實施例中，CDR-L3含有胺基酸序列
 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 115)，其中 X_1 為X； X_2 為S、Q、A或T； X_3 為Y、S、W、R； X_4 為A、D、R、T或Y； X_5 為X； X_6 為X； X_7 為S、P、L、Y、G； X_8 為X或空； X_9 為X或空； X_{10} 為L或空； X_{11} 為X；且 X_{12} 為V、T或L。舉例而言，在一些實施例中，抗體具有包含胺基酸序列
 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 114)的CDR-L3，其中 X_1 為S、G、T、A、Q、C或N； X_2 為S、Q、A或T； X_3 為Y、S、W、R； X_4 為A、D、R、T或Y； X_5 為A、S、P、G、N或D； X_6 為I、S、G、T、A、L、H、R、N； X_7 為S、P、L、Y、G； X_8 為P、T、S、Q、M、R、N或空； X_9 為S、L、N、A、M或空； X_{10}

為L或空；X₁₁為Y、W、F、V、A或L；且X₁₂為V、T或L。

在一些實施例中，在CDR-L1 (諸如SEQ ID NO: 110或111中所述)中，X₃為I、T或S；X₄為S、T或Q；X₈為D、G、I、S或空；X₉為S、G、I或空；X₁₀為H、Y、S或N；X₁₁為R、N、D或H；X₁₂為Y或D；且X₁₃為V或L；且/或在CDR-L2 (諸如SEQ ID NO: 112中所述)中，X₁為D；X₄為K、V、N、Q或R；X₆為P、K或A；且X₇為S、A或T；且/或在CDR-L3 (諸如SEQ ID NO: 114或115中所述)中，X₁為S、G、T、A、Q、C或N；X₅為A、S、P、G、N或D；X₆為I、S、G、T、A、L、H、R或N；X₈為P、T、S、Q、M、R、N或空；X₉為S、L、N、A、M或空；且X₁₁為Y、W、F、V、A或L。在一些實施例中，在CDR-L3中，X₁為S、G、Q或N；X₂為S、Q或T；X₄為A、D、T或Y；X₅為A、S或G；且X₆為I、S、N、R、A、H或T。

在一些實施例中，抗體包括的胺基酸序列含有SEQ ID NO: 83中所述之CDR-L1、SEQ ID NO: 84中所述之CDR-L2及/或SEQ ID NO: 85中所述之CDR-L3。

在一些實施例中，抗體(例如抗體片段)包含含有SEQ ID NO: 21、25、28或31中所述之胺基酸序列的CDR-L1。在一些實施例中，抗體或片段包含含有80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28或31中所述之胺基酸序列的CDR-L1。在一些實施例中，抗體或片段包含含有SEQ ID NO: 80、77、74、73、78、21或28中所述之胺基酸序列的CDR-L1。

在一些實施例中，抗體或片段包含含有SEQ ID NO: 22、26、29或32中所述之胺基酸序列的CDR-L2。在一些實施例中，抗體或片段包含含有SEQ ID NO: 100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29或32中所述之胺基酸序列的CDR-L2。在一些實施例中，抗體或片段包含含有SEQ ID NO: 100、97、94、93、98、22或29中所述之胺基

酸序列的CDR-L2。

在一些實施例中，抗體或片段含有包括SEQ ID NO: 23、24、27、30或33中所述之序列的CDR-L3。在一些實施例中，抗體或片段含有包括SEQ ID NO: 109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30或33中所述之序列的CDR-L3。在一些實施例中，抗體或片段含有包括SEQ ID NO: 109、106、103、101、107、24或30中所述之序列的CDR-L3。

在一些實施例中，CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別含有序列SEQ ID NO: 21、22及23；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包括序列SEQ ID NO: 21、22及24；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包括序列SEQ ID NO: 25、26及27；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別含有序列SEQ ID NO: 28、29及30；或CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別含有序列SEQ ID NO: 31、32及33。

在一些實施例中，CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 21、22及23；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 21、22及24；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 25、26及27；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 28、29及30；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 31、32及33；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 80、100及109；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 77、97及106；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 74、94及103；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 73、93及101；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 75、95及104；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 79、99及108；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 78、98及107；CDR-L1、CDR-L2及CDR-

L3分別包含序列SEQ ID NO: 76、96及105；CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 73、93及102；或CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含序列SEQ ID NO: 77、97及106。

亦提供具有與此類序列至少或約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之序列的抗體。

在一些實施例中，CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含序列SEQ ID NO: 18、81及20；CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含序列SEQ ID NO: 18、19及20；CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含序列SEQ ID NO: 18、82及20；或CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含序列SEQ ID NO: 18、72及20。

亦提供具有與此類序列至少或約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之序列的抗體。

在一些實施例中，抗體或片段之VH區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62；且/或抗體或片段之VL區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69或67。在一些實施例中，抗體或片段之VH區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11、60、63或62；且/或抗體或片段之VL區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14、16、71、90、65、64或69。

亦提供具有與此類序列至少或約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之序列的抗體。

在一些實施例中，抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12及17；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12及15；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及13；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及14；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及16；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列

SEQ ID NO: 63及71；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 62及68；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 11及65；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 60及64；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 61及66；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 63及70；抗體或片段之VH及VL區域分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 62及69；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 12及67；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 12及91；或抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列
 SEQ ID NO: 63及90。在一些實施例中，抗體或片段之VH及VL區分別
 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及14；抗體或片段之VH及VL區分別包
 含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及16；抗體或片段之VH及VL區分別包含
 胺基酸序列SEQ ID NO: 63及71；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺
 基酸序列SEQ ID NO: 11及65；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基
 酸序列SEQ ID NO: 60及64；抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸
 序列SEQ ID NO: 62及69；或抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸
 序列SEQ ID NO: 63及90。

亦提供具有與此類序列至少或約90%、91%、92%、93%、94%、
 95%、96%、97%、98%或99%一致之序列的抗體。

在一些實施例中，抗體或片段含有V_H區，該V_H區包括胺基酸序
 列SEQ ID NO: 11或12或此序列之殘基1-119或與此序列至少或約
 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的
 序列。

在一些實施例中，抗體包括或進一步包括V_L區，該V_L區包括胺
 基酸序列SEQ ID NO:13、14、15、16、17或與此序列至少或約90%、
 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的序

列。

在一些實施例中，抗體為單鏈抗體片段，諸如scFv或雙功能抗體。在一些實施例中，單鏈抗體包括一或多個連接兩個抗體域或區(諸如可變重鏈(V_H)區及可變輕鏈(V_L))的連接子。連接子典型地為肽連接子，例如柔性及/或可溶性肽連接子。富含於甘胺酸及絲胺酸及/或(在一些情況下)蘇胺酸中的連接子為連接子之一。在一些實施例中，連接子進一步包括能夠改良溶解度的帶電殘基，諸如離胺酸及/或麩胺酸。在一些實施例中，連接子進一步包括一或多個脯胺酸。

因此，亦提供單鏈抗體片段，諸如scFvs及雙功能抗體，特定而言，人類單鏈片段，其典型地包含連接兩個抗體域或區(諸如V_H及V_L域)的連接子。連接子典型地為肽連接子，例如柔性及/或可溶性肽連接子，諸如富含於甘胺酸及絲胺酸中的肽連接子。

在一些態樣中，富含於甘胺酸及絲胺酸(及/或蘇胺酸)中的連接子包括至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之此類胺基酸。在一些實施例中，其包括至少或約50%、55%、60%、70%或75%甘胺酸、絲胺酸及/或蘇胺酸。在一些實施例中，連接子實質上完全包含甘胺酸、絲胺酸及/或蘇胺酸。連接子的長度通常介於約5個與約50個胺基酸之間，典型地介於10或約10與30或約30之間，例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30，且在一些實例中，長度介於10個胺基酸與25個胺基酸之間。例示性連接子包括具有序列GGGGS (4GS；SEQ ID NO: 123)或GGGS (3GS；SEQ ID NO: 122)之不同數目個重複(諸如在此序列之2、3、4與5個重複之間)的連接子。例示性連接子包括具有或組成為SEQ ID NO: 34中所述之序列(GGGGSGGGGSGGGGS)的連接子。例示性連接子進一步包括具有或組成為SEQ ID NO: 43中所述之序列(GSTSGSGKPGSGEGSTKG)

的連接子。

因此，在一些實施例中，亦提供單鏈片段，例如scFvs，其包含一或多種前述連接子，諸如甘胺酸/絲胺酸富含的連接子，包括具有GGGS (SEQ ID NO:122)或GGGGS (SEQ ID NO: 123)之重複的連接子，諸如SEQ ID NO: 34所述之連接子。在一些實施例中，連接子具有含有SEQ ID NO: 34所述之序列的胺基酸序列。

片段(例如scFv)可包括V_H區或其一部分，隨後為連接子，隨後為V_L或其一部分。片段(例如scFv)可包括V_L，隨後為連接子，隨後為V_H。

在一些態樣中，scFv具有SEQ ID NO: 2、4、6、8或10中所述之胺基酸序列，或具有與此序列至少或約90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%一致的序列。

在一些態樣中，scFv具有SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89中所述之胺基酸序列，或具有與此序列至少或約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的序列。

在一些態樣中，scFv含有如SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89中所述的V_H、連接子及V_L，或與此序列至少或約90、91、92、93、94、95、96、97、98或99%一致的序列，但其中V_H及V_L係以相反取向 (相較於此類序列)組態，亦即V_L-V_H。

抗體(例如抗體片段)可含有免疫球蛋白恆定區之至少一部分，諸如一或多個恆定區域。在一些實施例中，恆定區包括輕鏈恆定區及/或重鏈恆定區1 (CH1)。在一些實施例中，抗體包括CH2及/或CH3域，諸如Fc區。在一些實施例中，Fc區為人類IgG (諸如IgG1或IgG4)之Fc區。

在一些實施例中，任一種上述抗體(例如抗體片段)為人類抗體。舉例而言，本文提供特異性結合CD19 (諸如特異性結合人類CD19)的人類抗CD19抗體。

在所提供之人類抗CD19抗體的一些實施例中，人類抗體含有V_H區，該V_H區含有與生殖系核苷酸人類重鏈V區段所編碼之胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性的一部分、與生殖系核苷酸人類重鏈D區段所編碼之胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的一部分，及/或與生殖系核苷酸人類重鏈J區段所編碼之胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的一部分；且/或含有V_L區，該V_L區含有與生殖系核苷酸人類κ或λ鏈V區段所編碼之胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的一部分，及/或與生殖系核苷酸人類κ或λ鏈J區段所編碼的胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%一致性的一部分。在一些實施例中，V_H區的一部分對應於CDR-H1、CDR-H2及/或CDR-H3。在一些實施例中，V_H區的一部分對應於構架區1 (FR1)、FR2、FR2及/或FR4。在一些實施例中，V_L區的一部分對應於CDR-L1、CDR-L2及/或CDR-L3。在一些實施例中，V_L區的一部分對應於FR1、FR2、FR2及/或FR4。

在一些實施例中，人類抗體含有CDR-H1，該CDR-H1與生殖系核苷酸人類重鏈V區段所編碼之序列內之相應CDR-H1區之胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。舉例而言，在一些實施例中，人類抗體所含的CDR-H1的序列與生殖系核苷酸人類重鏈V區段所編碼之序列內的相應CDR-H1區100%一致或具有不超過一個、兩個或三個胺基酸差異。

在一些實施例中，人類抗體含有CDR-H2，該CDR-H2與生殖系核苷酸人類重鏈V區段所編碼之序列內之相應CDR-H2區之胺基酸序

列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。舉例而言，在一些實施例中，人類抗體所含CDR-H2的序列與生殖系核苷酸人類重鏈V區段所編碼之序列內的相應CDR-H2區100%一致或具有不超過一個、兩個或三個胺基酸差異。

在一些實施例中，人類抗體含有CDR-H3，該CDR-H3與生殖系核苷酸人類重鏈V區段、D區段及J區段所編碼之序列內之相應CDR-H3區的胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。舉例而言，在一些實施例中，人類抗體所含CDR-H3的序列與生殖系核苷酸人類重鏈V區段、D區段及J區段所編碼之序列內的相應CDR-H3區100%一致或具有不超過一個、兩個或三個胺基酸差異。

在一些實施例中，人類抗體含有CDR-L1，該CDR-L1與生殖系核苷酸人類輕鏈V區段所編碼之序列內之相應CDR-L1區的胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。舉例而言，在一些實施例中，人類抗體所含CDR-L1的序列與生殖系核苷酸人類輕鏈V區段所編碼之序列內的相應CDR-L1區100%一致或具有不超過一個、兩個或三個胺基酸差異。

在一些實施例中，人類抗體含有CDR-L2，該CDR-L2與生殖系核苷酸人類輕鏈V區段所編碼之序列內之相應CDR-L2區的胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。舉例而言，在一些實施例中，人類抗體所含CDR-L2的序列與生殖系核苷酸人類輕鏈V區段所編碼之序列內的相應CDR-L2區100%一致或具有不超過一個、兩個或三個胺基酸差異。

在一些實施例中，人類抗體含有CDR-L3，該CDR-L3與生殖系核苷酸人類輕鏈V區段及J區段所編碼之序列內之相應CDR-L3區之胺基酸序列具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。

舉例而言，在一些實施例中，人類抗體所含CDR-L3的序列與生殖系核苷酸人類輕鏈V區段及J區段所編碼之序列內的相應CDR-L3區100%一致或具有不超過一個、兩個或三個胺基酸差異。

在一些實施例中，人類抗體包含含有人類生殖系基因區段序列的構架區。舉例而言，在一些實施例中，人類抗體含有V_H區，其中構架區(例如FR1、FR2、FR3及FR4)與人類生殖系抗體區段(諸如V及/或J區段)所編碼的構架區具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。在一些實施例中，人類抗體含有V_L區，其中構架區(例如FR1、FR2、FR3及FR4)與人類生殖系抗體區段(諸如V及/或J區段)所編碼的構架區具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%序列一致性。舉例而言，在一些此類實施例中，V_H及/或V_L序列之構架序列相較於人類生殖系抗體區段所編碼之構架區的差異不超過10個胺基酸，諸如不超過9、8、7、6、5、4、3、2或1個胺基酸。

抗體(例如抗體片段)可含有免疫球蛋白恆定區之至少一部分，諸如一或多個恆定區域。在一些實施例中，恆定區包括輕鏈恆定區及/或重鏈恆定區1 (CH1)。在一些實施例中，抗體包括CH2及/或CH3域，諸如Fc區。在一些實施例中，Fc區為人類IgG (諸如IgG1或IgG4)之Fc區。

亦提供編碼抗體及/或其一部分(例如鏈)的核酸。編碼本文所述之抗CD19抗體的核酸為所提供之核酸之一。核酸可包括包含天然及/或非天然存在之核苷酸及鹼基的核酸，例如包括具有主鏈修飾的彼等物。術語「核酸分子」、「核酸」及「聚核苷酸」可互換使用且係指核苷酸聚合物。此類核苷酸聚合物可含有天然及/或非天然核苷酸且包括(但不限於) DNA、RNA及PNA。「核酸序列」係指組成核酸分子或聚核苷酸之核苷酸的線性序列。例示性核酸及載體為具有如SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、44、46、48、50、52、54、56、58、86及88所

述之序列及其CDR編碼部分以及含有與其至少或約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致性之序列的彼等物。核酸可編碼包含抗體之V_L之胺基酸序列及/或包含抗體之V_H之胺基酸序列(例如抗體之輕鏈及/或重鏈)。

亦提供含有核酸之載體、含有載體之宿主細胞，用於例如產生抗體。亦提供用於產生抗體的方法。在另一實施例中，提供包含此類核酸的一或多種載體(例如表現載體)。在另一實施例中，提供包含此類核酸之宿主細胞。在一個此類實施例中，宿主細胞包含(例如已經以下轉型)：(1)包含核酸的載體，該核酸編碼包含抗體V_L的胺基酸序列及包含抗體V_H的胺基酸序列；或(2)包含編碼含有抗體V_L之胺基酸序列之核酸的第一載體及包含編碼含有抗體V_H之胺基酸序列之核酸的第二載體。在一些實施例中，提供製備抗CD19抗體之方法，其中該方法包含在適合於表現抗體之條件下培養如上文所提供之包含編碼抗體之核酸的宿主細胞及視情況自宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收抗體。

亦提供製備抗CD19抗體(包括抗原結合片段)的方法。重組產生抗CD19抗體時，可分離出編碼抗體之核酸(例如如上文所述)且插入一或多種載體中用於進一步選殖及/或表現於宿主細胞中。此類核酸可容易使用習知程序(例如藉由使用能夠專一性結合至編碼抗體重鏈及輕鏈之基因的寡核苷酸探針)分離及測序。

除原核生物之外，真核微生物(諸如絲狀真菌或酵母)為適用於編碼抗體之載體的選殖或表現宿主，包括糖基化路徑已經修飾以模擬或接近人類細胞中之糖基化路徑的真菌及酵母株，從而產生具有部分或完全人類糖基化模式的抗體。參見Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)，及Li等人, Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)。

可用於表現多肽的例示性真核細胞包括(但不限於) COS細胞，包

括COS 7細胞；293細胞，包括293-6E細胞；CHO細胞，包括CHO-S、DG44、Lec13 CHO細胞，及FUT8 CHO細胞；PER. C6[®]細胞；及NSO細胞。在一些實施例中，抗體重鏈及/或輕鏈可表現於酵母中。參見例如美國公開案第US 2006/0270045 A1號。在一些實施例中，特定真核宿主細胞係根據其對重鏈及/或輕鏈產生所要轉譯後修飾的能力加以選擇。舉例而言，在一些實施例中，CHO細胞產生多肽，該等多肽的唾液酸化程度高於293細胞中所產生之相同多肽。

在一些實施例中，抗體係用無細胞系統產生。例示性無細胞系統描述於例如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)。

所提供的實施例進一步包括用於表現及產生抗體及其他結合蛋白的載體及宿主細胞及其他表現系統，包括真核及原核宿主細胞，包括細菌、絲狀真菌及酵母，以及哺乳動物細胞，諸如人類細胞，以及無細胞表現系統。

例示性特徵

在一些態樣中，所提供的抗體(包括抗原結合片段)具有一或多種特定功能特徵，諸如結合特性，包括結合至特定抗原決定基，諸如與其他抗體之抗原決定基類似或重疊的抗原決定基；與其他抗體競爭結合的能力，及/或特定結合親和力。

在一些實施例中，抗體專一性結合至CD19蛋白質。在本文任一實施例之一些態樣中，CD19係指人類CD19。一般而言，抗體或其他結合分子結合至CD19或專一性結合至CD19的觀測結果不一定意謂其結合至每個物種之CD19。舉例而言，在一些實施例中，結合至CD19的特徵(諸如專一性結合至其及/或與參考抗體競爭結合至其的能力，及/或以特定親和力結合或在特定程度上競爭的能力)在一些實施例中

係指針對人類CD19蛋白質的能力且很多抗體對於其他物種(諸如猴或小鼠)的CD19不具有此特徵。

在一些實施例中，所提供的抗體(包括抗原結合片段)結合至人類CD19，諸如結合至人類CD19之抗原決定基或區域，諸如結合至92(寄存編號P15391)中所述之人類CD19，或其對偶基因變異體或拼接變異體。

在一些實施例中，抗CD19抗體結合至無關非CD19蛋白質(諸如非人類CD19或其他非蛋白質)的程度小於抗體結合至人類CD19之程度的約40%，如藉由例如放射免疫分析(RIA)所量測。在一些實施例中，所提供之抗體為與非人類CD19或其他非CD19蛋白質之結合小於或為抗體與CD19結合之約30%、小於或約20%或小於或約10%。

在一些實施例中，所提供之抗體(包括抗原結合片段)的此類特性經描述與針對另一種抗體(例如參考抗體)所觀測到的特性有關。在一些實施例中，參考抗體為非人類抗CD19抗體，諸如鼠類或嵌合或人類化抗CD19抗體。在一些態樣中，參考抗體為命名為FMC63的抗體或命名為SJ25C1的抗體(參見例如Zola H等人, *Immunol Cell Biol.* 1991年12月; 69 (Pt 6):411-22; 美國專利7,446,190)，及/或來源於其的片段，諸如其scFv片段，及/或含有此類抗體之V_H及V_L序列及/或此類抗體之重鏈及輕鏈CDR的抗體。

舉例而言，在一些實施例中，參考抗體具有含有SEQ ID NO: 39或41中所述之序列的V_H區，或包含此序列內的CDR1、CDR2及/或CDR3，且/或具有含有SEQ ID NO: 40或42中所述之序列的V_L，或包含此序列內的CDR1、CDR2及/或CDR3。因此，在一些實施例中，抗體與FMC63或SJ25C1或其抗原結合片段競爭結合且/或結合至相同或重疊的CD19抗原決定基。

在一些實施例中，參考抗體具有存在於如本文所述之抗體或其

一部分中的序列。舉例而言，在一些實施例中，參考抗體具有SEQ ID NO: 13、14、15、16或17中所述及/或SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69或67中所述之輕鏈可變(V_L)區胺基酸序列，且/或具有SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62中所述之重鏈可變(V_H)區。在一些實施例中，抗體具有如此類抗體中所存在的重鏈及/或輕鏈CDR 1、2及/或3。在一些實施例中，參考抗體可為含有SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89中所述之胺基酸序列的scFv。

儘管如此，但在一些實施例中，抗體含有與參考抗體(諸如FMC63及SJ25C1)中存在之CDR不同的重鏈及輕鏈CDR。舉例而言，所提供之抗體為與參考抗體競爭結合且/或結合至與參考抗體所結合之抗原決定基相同或重疊的CD19抗原決定基，儘管如此仍含有不同CDRs，例如不同的重鏈及/或輕鏈CDR1、CDR2及CDR3。在一些實施例中，所提供之抗體含有與命名為FMC63之抗體中存在之CDR(諸如SEQ ID NO: 39中所述之V_H區及/或SEQ ID NO: 40中所述之V_L區中所存在的CDR)不同的重鏈及輕鏈CDR。在一些實施例中，所提供之抗體含有與命名為SJ25C1之抗體中存在之CDR (諸如SEQ ID NO: 41中所述之V_H區及/或SEQ ID NO: 42中所述之V_L區中所存在的CDR)不同的重鏈及輕鏈CDR。

舉例而言，在一些實施例中，抗體專一性結合至與參考抗體所結合之CD19抗原決定基重疊的抗原決定基，諸如抗體與參考抗體結合至相同或類似的抗原決定基。在一些實施例中，抗體與參考抗體競爭結合至CD19。

在一些實施例中，相較於CD19陰性細胞(諸如此項技術中已知及/或本文所述之特定細胞)，抗體對表現CD19之細胞呈現結合傾向。在一些實施例中，在量測到結合至表現CD19之細胞的程度顯著大於不

表現CD19之細胞的情況下，觀測到結合傾向。在一些實施例中，如藉由基於流式細胞術之分析中的平均螢光強度及/或解離常數或EC50所量測，所偵測之與表現CD19之細胞結合的程度相較於不表現CD19之細胞的變化倍數為至少或約1.5、2、3、4、5、6或大於6，且/或與針對參考抗體(諸如相應形式之參考抗體)所觀測到之變化倍數約同樣大、約相同、至少同樣大或至少約同樣大或更大。在一些情況下，所觀測到之與CD19或表現CD19之細胞結合的總程度與針對參考抗體所觀測到的總程度大約相同、至少同樣大或更大。在任一個所提供之實施例中，結合特性(諸如親和力或競爭力)可藉由相同或類似分析、經由量測來比較。

若抗體競爭性地抑制參考抗體結合至CD19，且/或若參考抗體競爭性地抑制抗體結合至CD19，則抗體與參考抗體「競爭結合」至CD19。若抗體的過量存在可偵測地抑制(阻斷)另一抗體結合至其抗原，則抗體競爭性地抑制參考抗體結合至抗原。可說明特定抑制程度。

在一些實施例中，相較於參考抗體的量或濃度，所提供之抗體的過量(例如1倍、2倍、5倍、10倍、50倍或100倍過量)添加抑制參考抗體結合至抗原(或反之亦然)。在一些實施例中，結合被抑制至少50%，且在一些實施例中，結合被抑制至少75%、90%或99%。在一些態樣中，競爭性抑制在競爭性結合分析中所量測(參見例如Junghans等人, *Cancer Res.* 1990:50:1495-1502)。

在一些實施例中，在參考抗體以10 nM濃度存在的情況下，所提供之抗體以小於或約100、50、40、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11或10 nM或小於或約9、8、7、6、或5 nM之IC50抑制參考抗體結合。在一些實施例中，在所提供之抗體以10 nM濃度存在的情況下，參考抗體以小於或約100、50、40、30、25、20、

19、18、17、16、15、14、13、12、11或10 nM或小於或約9、8、7、6或5 nM之IC₅₀抑制所提供之抗體的結合。

在一些實施例中，所提供抗體對參考抗體結合的競爭性抑制(或反之亦然)與參考抗體自身(例如未標記之參考抗體)對參考抗體結合的競爭性抑制程度相同或大約相同或至少相同或大約相同。在一些實施例中，所提供之抗體將參考抗體與人類CD19的結合(諸如FMC63或SJ25C1與人類CD19的結合)抑制至少70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。競爭性抑制分析已知且包括基於ELISA之分析、基於流式細胞術之分析及基於RIA之分析。在一些態樣中，競爭性抑制分析如下進行：合併過量的一種抗體之未標記形式且評估其阻斷經可偵測標記標記之另一抗體結合的能力，以便可藉由偵測標記或標記物來評估結合程度及其減小。

在一些實施例中，若減少或消除一種抗體結合的抗原中之全部或基本上全部胺基酸突變減少或消除另一種抗體的結合，則兩種抗體專一性結合至相同抗原決定基。在一些實施例中，若減少一種抗體與抗原結合或消除一種抗體與抗原結合的抗原中之至少一些胺基酸突變亦減少或消除另一種抗體與抗原的結合，則兩種抗體專一性結合至重疊的抗原決定基。

在一些實施例中，所提供之抗體能夠以至少一定的親和力結合CD19，諸如人類CD19，如藉由多種已知方法中的任一者所量測。在一些實施例中，親和力由解離常數(K_d)表示；在一些實施例中，親和力由EC₅₀表示。在某些實施例中，抗體對CD19的結合親和力(EC₅₀)及/或解離常數為或約或小於或小於約100 nM、50 nM、40 nM、30 nM、25 nM、20 nM、19 nM、18 nM、17 nM、16 nM、15 nM、14 nM、13 nM、12 nM、11 nM、10 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6 nM、5 nM、4 nM、3 nM、2 nM或1 nM，諸如1 nM或約1 nM與15 nM或約15

nM之間，例如5 nM或約5 nM與10 nM或約10 nM之間。在一個實施例中，抗CD19抗體與無關非CD19蛋白質之結合程度小於該抗體與CD19之結合的10%或約10%，如藉由例如放射免疫分析(RIA)所量測。

在一些態樣中，親和力與參考抗體(諸如鼠類CD19抗體，例如FMC63或SJ25C1)的親和力程度相同或大約相同或實質上相同。在一些態樣中，親和力與參考抗體的親和力至少80%、85%、90%、95%或99%相同。在一些實施例中，結合親和力相對於參考抗體相應形式加以比較。

在一些實施例中，抗體的親和力(例如EC50或Kd)與參考抗體(諸如參考抗體的相應形式)的親和力大約相同或比其低，例如比參考抗體EC50大不超過約1.5倍或不超過約2倍、大不超過3倍及/或大不超過10倍，如例如相同或類似分析中所量測。

在某些實施例中，抗CD19抗體結合至CD19之抗原決定基，該抗原決定基在不同物種的CD19中具保守性。在一些實施例中，抗原決定基位於CD19的細胞外部分內或含有位於細胞外部分內的一部分。

本文提供之抗CD19抗體可藉由各種已知分析、根據其物理/化學特性及/或生物學活性加以鑑別、篩選或表徵。在一個態樣中，測試抗體的抗原結合活性，例如藉由已知方法測試，諸如ELISA、西方墨點法及/或流式細胞學分析，包括基於細胞之結合分析，例如評估抗體(例如與螢光標記物結合或經標記)與表現靶抗原(例如CD19)之細胞的結合，在一些情況下與使用不表現靶抗原(例如CD19)之細胞所得的結果相比較。結合親和力可以或EC50量測。

競爭分析可用於鑑別與本文所述之任一種抗體競爭的抗體。用於抗體及參考抗體所結合之抗原決定基定位的分析亦可使用且已知。

免疫結合物

在一些實施例中，抗體為免疫結合物或為免疫結合物的一部

分，其中抗體係與一或多種異源分子(諸如(但不限於)細胞毒性劑、成像劑、可偵測部分、多聚合域或其他異源分子)結合。細胞毒性劑包括(但不限於)放射性同位素(例細胞毒性劑包括(但不限於)放射性同位素(例如 At211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212 及 Lu 放射性同位素)；化學治療劑(例如甲胺喋呤(methotrexate)、阿德力黴素(adriamycin)、長春花生物鹼(長春新鹼(vincristine)、長春鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide))、小紅莓(doxorubicin)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素C (mitomycin C)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、道諾黴素(daunorubicin)或其他嵌入劑)；生長抑制劑；酶及其片段，諸如核分解酶；抗生素；毒素，諸如小分子毒素或酶促活性毒素。在一些實施例中，抗體係與一或多種細胞毒性劑結合，諸如化學治療劑或藥物、生長抑制劑、毒素(例如蛋白質毒素；細菌、真菌、植物或動物來源之酶促活性毒素，或其片段)或放射性同位素。

免疫結合物為抗體-藥物結合物(ADC)，其中抗體與一或多種包括(但不限於)以下之藥物結合：類美登素(maytansinoid)(參見美國專利第5,208,020號、第5,416,064號及歐洲專利EP 0 425 235 B1)；奧瑞他汀(auristatin)，諸如單甲基奧瑞他汀藥物部分DE及DF (MMAE及MMAF)(參見美國專利第5,635,483號及第5,780,588號及第7,498,298號)；海兔毒素(dolastatin)；卡奇黴素(calicheamicin)或其衍生物(參見美國專利第號5,712,374號、第5,714,586號、第5,739,116號、第5,767,285號、第5,770,701號、第5,770,710號、第5,773,001號及第5,877,296號；Hinman等人, *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993)；及Lode等人, *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998))；蒽環黴素(anthracycline)，諸如道諾黴素或小紅莓(參見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)；美國專利第6,630,579號)；甲胺喋呤；長春地辛(vindesine)；紫杉烷，諸如多西他賽(docetaxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、拉洛他賽(larotaxel)、替司他賽(tesetaxel)及奧他賽(ortataxel)；單端孢黴烯族毒素(trichothecene)；及CC1065。

此外，免疫結合物為其中抗體與酶促活性毒素或其片段結合的彼等物，該酶促活性毒素或其片段包括(但不限於)白喉A鏈(diphtheria A chain)、白喉毒素(diphtheria toxin)之非結合活性片段、外毒素A鏈(得自綠膿桿菌)、蓖麻毒素A鏈(ricin A chain)、相思子毒素A鏈(abrin A chain)、莫迪素A鏈(modeccin A chain)、 α -帚麴菌素(alpha-sarcin)、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白質、康乃馨(dianthin)蛋白質、洋商陸(*Phytolaca americana*)蛋白質(PAPI、PAPII及PAP-S)、苦瓜(*momordica charantia*)抑制劑、麻瘋樹毒蛋白(curcin)、巴豆毒素(croton)、肥皂草(*saponaire officinalis*)抑制劑、白樹素(gelonin)、有絲分裂素(mitogellin)、侷限麴菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)及單端孢黴烯族毒素。

此外，免疫結合物為其中抗體與放射性原子結合而形成放射性結合物的彼等物。例示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} 及Lu放射性同位素。

抗體與細胞毒性劑之結合物可使用多種已知蛋白質偶合劑中的任一者(例如連接子)製得(參見Vitetta等人, *Science* 238:1098 (1987))，WO94/11026。連接子可為促進細胞毒性藥物於細胞中釋放的「可裂解連接子」，諸如酸不穩定性連接子、肽酶敏感性連接子、光不穩定性連接子、二甲基連接子及含二硫鍵連接子(Chari等人, *Cancer Res.*

52:127-131 (1992)；美國專利第5,208,020號)。

結合物亦可包括融合蛋白，諸如Fc融合物及嵌合分子。

多專一性抗體

在某些實施例中，CD19結合分子(例如抗體)具多專一性。多專一性抗體(包括雙專一性抗體)為多專一性結合分子之一。多專一性結合搭配物(例如抗體)具有針對至少兩個可位於相同或不同抗原中之不同位點的結合專一性。在某些實施例中，結合專一性之一係針對CD20且另一者係針對另一抗原。在某些實施例中，雙專一性抗體可結合至CD19之兩個不同抗原決定基。雙專一性抗體亦可用於使細胞毒素劑定位至表現CD19之細胞。雙專一性抗體可製備為全長抗體或抗體片段。多專一性單鏈抗體(例如雙功能抗體、三功能抗體及四功能抗體、串聯二-scFvs及串聯三-scFvs)為雙專一性抗體之一。亦提供含有抗體的多專一性嵌合受體，諸如多專一性CARs。

例示性其他抗原包括其他B細胞專一性抗原及表現於T細胞上的抗原。例示性抗原包括CD4、CD5、CD8、CD14、CD15、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40L、CD46、CD52、CD54、CD74、CD80、CD126、CD138、B7、MUC-1、Ia、HM1.24、HLA-DR、生腱蛋白(肌腱蛋白)、血管生成因子、VEGF、PIGF、ED-B纖維結合蛋白、癌基因、癌基因產物、CD66a-d、壞死抗原、Ii、IL-2、T101、TAC、IL-6、TRAIL-R1 (DR4)及TRAIL-R2 (DR5)。

變異體

在某些實施例中，抗體包括一或多個相較於本文所述抗體序列的胺基酸變異，例如取代、缺失、插入及/或突變。例示性變異體包括經設計以改良抗體之結合親和力及/或其他生物特性的彼等物。抗體之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼該抗體之核苷酸序

列中或藉由肽合成製備。此類修飾包括例如發生於抗體胺基酸序列內的殘基缺失及/或插入及/或取代。為了獲得最終構築體，缺失、插入與取代可任意組合，其限制條件為最終構築體具有所要特徵，例如抗原結合。

在某些實施例中，抗體包括一或多個胺基酸取代，例如相較於本文所述之抗體序列及/或相較於天然譜系(例如人類譜系)之序列的一或多個胺基酸取代。所關注之取代型突變誘發位點包括CDRs及FRs。可將胺基酸取代引入所關注之抗體中且根據所要活性來篩選產物，例如保持/改良之抗原結合、降低之免疫原性、改良之半衰期及/或改良之效應子功能，諸如促進抗體依賴性細胞之細胞毒性(ADCC)或補體依賴性細胞毒性(CDC)的能力。在一些實施例中，變異型抗體展現保持或改良之CD19結合。

在一些實施例中，親本抗體(例如人類化或人類抗體)之CDR內的一或多個殘基經取代。在一些實施例中，發生取代係為了使序列或序列中的位置恢復為生殖系序列，諸如生殖系(例如人類生殖系)中所發現的抗體序列，以例如降低免疫原性之可能性，例如在投與人類個體時。

在一些實施例中，變異發生於體細胞成熟過程期間經歷高頻率突變之密碼子所編碼的CDR「熱點」殘基(參見例如 Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008))，及/或接觸抗原的殘基，其中根據結合親和力測試所得變異型V_H或V_L。藉由構建二級庫及自二級庫再選擇來達成親和力成熟已描述於例如 Hoogenboom 等人之 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001))。在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易錯 PCR、鏈改組或寡核苷酸定向突變誘發)中之任一種將多樣性引入為了成熟所選之可變基因中。接著產生二級庫。接著篩選庫以鑑別具有

所要親和力之任何抗體變異體。引入多樣性之另一方法包括CDR定向途徑，其中將若干CDR殘基(例如一次4-6個殘基)隨機化。涉及抗原結合之CDR殘基可專門鑑別，例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑別。特定言之，往往以CDR-H3及CDR-L3為目標。

在某些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個CDR內，只要此等變異實質上不降低抗體結合抗原之能力即可。舉例而言，實質上不降低結合親和力之保守性變異(例如，如本文所提供之保守性取代)可發生於CDR中。此類變異可發生於例如CDR中之接觸抗原之殘基外部。在上文提供之變異型V_H及V_L序列之某些實施例中，各CDR未變異或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或超過一百個殘基之多肽範圍內的胺基末端及/或羧基末端融合，以及單一或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N末端甲硫胺醯基殘基之抗體。抗體分子之其他插入型變異體包括抗體N末端或C末端融合至使抗體血清半衰期延長的酶或多肽。

修飾

在某些實施例中，改變抗體以提高或降低抗體糖基化的程度，例如藉由改變胺基酸序列而移除或插入一或多個糖基化位點及/或藉由修飾連接至糖基化位點的寡醣(例如使用某些細胞株)來改變抗體。糖基化位點包括重鏈之天冬醯胺297(根據Kabat編號)。

例示性修飾、變異體及細胞株描述於例如專利公開案第US 2003/0157108號、第US 2004/0093621號、第US 2003/0157108號；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；

Okazaki等人, J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki等人, Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Ripka等人, Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); 美國專利申請案第US 2003/0157108 A1號, Presta, L; 及WO 2004/056312 A1, Yamane-Ohnuki等人 Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. 等人, Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); 及WO2003/085107); WO 2003/011878 (Jean-Mairet 等人); 美國專利第 6,602,684 號 (Umana 等人); 及 US 2005/0123546 (Umana 等人); WO 1997/30087 (Patel 等人); WO 1998/58964 (Raju, S.); 及WO 1999/22764 (Raju, S.)。

經修飾之抗體為具有一或多個胺基酸修飾於Fc區中的彼等物, 諸如人類Fc區序列或恆定區之其他部分(例如人類IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc區)包含胺基酸修飾(例如取代)於一或多個胺基酸位置的彼等物。

此類修飾可例如改良半衰期、改變與一或多種類型之Fc受體的結合, 及/或改變效應子功能。

變異體亦為經半胱胺酸工程改造之抗體(諸如「thioMAbs」)及經半胱胺酸工程改造之其他變異體, 其中抗體之一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代, 以便在可近接位點產生反應性硫醇基, 例如用於藥劑與連接劑之結合以產生免疫結合物。經半胱胺酸工程改造之抗體描述於例如美國專利第7,855,275號及第7,521,541號中。

在一些實施例中, 抗體經修飾以含有其他非蛋白部分, 包括水溶性聚合物。例示性聚合物包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啉酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)及聚葡萄糖或聚(N-乙基基吡咯啉酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧

乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其於水中之穩定性而可具有製造優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為分支或未分支的。與抗體連接之聚合物的數目可變化，且若連接超過一個聚合物，則聚合物可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生化之聚合物之數目及/或類型可根據包括(但不限於)所改良抗體之具體特性或功能、抗體衍生物是否將用於限定條件下之療法等因素來確定。

B. 重組受體

所提供之CD19結合分子為專一性結合至CD19的重組受體，諸如抗原受體及其他嵌合受體，諸如含有所提供之抗CD19抗體(例如抗體片段)的受體。抗原受體為功能性非TCR抗原受體，諸如嵌合抗原受體(CARs)。亦提供表現重組受體的細胞及其用於授受細胞療法的用途，諸如治療與CD19表現相關的疾病及病症。

例示性抗原受體(包括CARs)及工程改造此類受體及將此類受體引入細胞中的方法包括例如國際專利申請公開案第WO200014257號、第WO2013126726號、第WO2012/129514號、第WO2014031687號、第WO2013/166321號、第WO2013/071154號、第WO2013/123061號；美國專利申請公開案第US2002131960號、第US2013287748號、第US20130149337號；美國專利第6,451,995號、第7,446,190號、第8,252,592號、第8,339,645號、第8,398,282號、第7,446,179號、第6,410,319號、第7,070,995號、第7,265,209號、第7,354,762號、第7,446,191號、第8,324,353號及第8,479,118號，及歐洲專利申請案第EP2537416號中所述之彼等；及/或以下文獻中所述之彼等：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

態樣中，抗原受體包括如美國專利第7,446,190號中所述的CAR及國際專利申請公開案第WO/2014055668 A1號中所述之彼等。例示性CARs包括如任一前述公開案(諸如WO2014031687、US 8,339,645、US 7,446,179、US 2013/0149337、美國專利第7,446,190號、美國專利第8,389,282號)中所揭示之CARs，例如其中抗原結合部分(例如scFv)經例如本文提供的抗體置換。

嵌合抗原受體(CARs)為嵌合受體之一。嵌合受體(諸如CARs)通常包括細胞外抗原結合域，其包括、其為或其包含於所提供之抗CD19抗體之一內。因此，嵌合受體(例如CARs)典型地在其細胞外部分中包括一或多個CD19結合分子，諸如一或多個抗原結合片段、域或部分，或一或多個抗體可變域，及/或抗體分子，諸如本文所述之彼等物。在一些實施例中，CAR包括CD19結合部分或抗體分子的一部分，諸如抗體之重(V_H)鏈可變區及/或輕(V_L)鏈可變區，例如scFv抗體片段。

靶向CD19的CARs描述於例如Kochenderfer等人，2013，*Nature Reviews Clinical Oncology*, 10, 267-276 (2013)；Wang等人，(2012) *J. Immunother.* 35(9): 689-701；及Brentjens等人，*Sci Transl Med.* 2013 5(177)。亦參見WO2014031687、US 8,339,645、US 7,446,179、US 2013/0149337、美國專利第7,446,190號及美國專利第8,389,282號。

在一些實施例中，重組受體(諸如CAR，諸如其抗體部分)進一步包括間隔子，該間隔子可為或包括免疫球蛋白恆定區之至少一部分或其變異形式或經修飾形式，諸如鉸鏈區，例如IgG4鉸鏈區，及/或CH1/CL及/或Fc區。在一些態樣中，恆定區的一部分充當抗原識別組分(例如scFv)與跨膜域之間的間隔區。相較於間隔子的缺乏，間隔子可具有使得細胞在抗原結合之後的反應性增強的長度。在一些實例中，間隔子長度為12或約12個胺基酸或長度不超過12個胺基酸。例示

性間隔子包括具有至少約10至229個胺基酸、約10至200個胺基酸、約10至175個胺基酸、約10至150個胺基酸、約10至125個胺基酸、約10至100個胺基酸、約10至75個胺基酸、約10至50個胺基酸、約10至40個胺基酸、約10至30個胺基酸、約10至20個胺基酸或約10至15個胺基酸(包括任一所列範圍之端點之間的任何整數)的彼等物。在一些實施例中，間隔區具有約12或少於12個胺基酸、約119個或少於119個胺基酸，或約229個或少於229個胺基酸。例示性間隔子包括單獨IgG4鉸鏈、連接至CH2及CH3域的IgG4鉸鏈，或連接至CH3域的IgG4鉸鏈。例示性間隔子包括(但不限於)Hudecek等人(2013) *Clin. Cancer Res.*, 19:3153；國際專利申請公開案第WO2014031687號、美國專利第8,822,647號或公開申請案第US2014/0271635號中所述之彼等物。

在一些實施例中，恆定區或一部分來自人類IgG，諸如IgG4或IgG1。在一些實施例中，間隔子具有序列ESKYGPPCPPCP (闡述於SEQ ID NO: 124中)，且由SEQ ID NO: 125中所述之序列編碼。在一些實施例中，間隔子具有SEQ ID NO: 126中所述之序列。在一些實施例中，間隔子具有SEQ ID NO: 127中所述之序列。在一些實施例中，恆定區或一部分來自IgD。在一些實施例中，間隔子具有SEQ ID NO: 128中所述之序列。在一些實施例中，間隔子的胺基酸序列與SEQ ID NO: 124、126、127或128中的任一者展現至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於99%序列一致性。

抗原識別域通常連接至一或多種細胞內信號傳導組分，諸如在CAR情況下經由抗原受體複合物(諸如TCR複合物)模擬活化且/或經由另一細胞表面受體傳導信號的信號傳導組分。因此，在一些實施例中，CD19專一性結合組分(例如抗體)連接至一或多種跨膜域及細胞內信號傳導域。在一些實施例中，跨膜域與胞外域融合。在一個實施例

中，使用與受體(例如CAR)中之一個域天然關聯的跨膜域。在一些情況下，跨膜域可經選擇或藉由胺基酸取代加以修飾以避免此類域結合至相同或不同表面膜蛋白質之跨膜域，從而使與受體複合物之其他成員的相互作用最小化。

在一些實施例中，跨膜域來源於天然或合成來源。在天然來源的情況下，在一些態樣中，域來源於任何膜結合蛋白或跨膜蛋白。跨膜區包括來源於T細胞受體CD28、CD3 ϵ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD 16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD 134、CD137、CD 154之 α 、 β 或 ξ 鏈的跨膜區(亦即至少包含其跨膜區)，及/或含有其功能性變異體的跨膜區，諸如保持其結構(例如跨膜)特性之實質性部分的跨膜區。在一些實施例中，跨膜域為來源於CD4、CD28或CD8 (例如CD8 α)的跨膜域或其功能性變異體。在一些實施例中，跨膜域在一些實施例中為合成跨膜域。在一些態樣中，合成跨膜域主要包含疏水性殘基，諸如白胺酸及纈胺酸。在一些態樣中，在合成跨膜域之各端發現苯丙胺酸、色胺酸及纈胺酸之三聯體。在一些實施例中，藉由連接子、間隔子及/或跨膜域連接。

細胞內信號傳導域為經由天然抗原受體模擬或接近信號、經由此受體與共刺激受體之組合來模擬或接近信號及/或經由單獨共刺激受體模擬或接近信號。在一些實施例中，存在短寡肽或多肽連接子(例如長度在2個與10個胺基酸之間的連接子，諸如含有甘胺酸及絲胺酸的連接子，例如甘胺酸-絲胺酸二聯體)且形成CAR之跨膜域與細胞質信號傳導域之間的鍵聯。

受體(例如CAR)通常包括至少一種細胞內信號傳導組分。在一些實施例中，受體包括TCR複合物之細胞內組分，諸如介導T細胞活化及細胞毒性的TCR CD3鏈，例如CD3 ξ 鏈。因此，在一些態樣中，CD19結合抗體連接至一或多個細胞信號傳導模組。在一些實施例

中，細胞信號傳導模組包括CD3跨膜域、CD3細胞內信號傳導域及/或其他CD跨膜域。在一些實施例中，受體(例如CAR)進一步包括一或多種其他分子(諸如Fc受體 γ 、CD8、CD4、CD25或CD16)的一部分。舉例而言，在一些態樣中，CAR包括CD3-zeta (CD3- ζ)或Fc受體 γ 與CD8、CD4、CD25或CD16之間的嵌合分子。

在一些實施例中，CAR連接後，CAR的細胞質域或細胞內信號傳導域活化至少一種正常效應子功能或免疫細胞(例如經工程改造以表現CAR的T細胞)反應。舉例而言，在一些背景下，CAR誘導T細胞功能，諸如細胞溶解活性或T輔助活性，諸如細胞激素或其他因子之分泌。在一些實施例中，抗原受體組分或共刺激分子之細胞內信號傳導域的截短部分例如若轉導效應子功能信號，則使用其置換完整的免疫刺激鏈。在一些實施例中，細胞內信號傳導域包括T細胞受體(TCR)的細胞質序列及在一些態樣中、在天然環境下與此類受體協同作用之共受體的細胞質序列以在抗原受體接合之後起始信號轉導，及/或此類分子的任何衍生物或變異體，及/或具有相同功能能力的任何合成序列。

在天然TCR之情形下，完整活化通常不僅需要經由TCR傳導信號，而且需要共刺激信號。因此，在一些實施例中，為了促進完全活化，CAR中亦包括用於產生二級或共刺激信號的組分。在其他實施例中，CAR不包括產生共刺激信號的組分。在一些態樣中，另一種CAR表現於相同細胞中且提供產生二級或共刺激信號的組分。

T細胞活化在一些態樣中描述為由兩類細胞質信號傳導序列介導：經由TCR起始抗原依賴性初始活化的細胞質信號傳導序列(初始細胞質信號傳導序列)，及以抗原非依賴性方式發揮作用以提供二級或共刺激信號的細胞質信號傳導序列(二級細胞質信號傳導序列)。在一些態樣中，CAR包括此類信號傳導組分中的一者或兩者。

在一些態樣中，CAR包括調節TCR複合物初始活化的初始細胞質信號傳導序列。以刺激方式發揮作用之初始細胞質信號傳導序列可含有信號傳導基元，稱為基於免疫受體酪胺酸之活化基元或ITAM。含有ITAM之初始細胞質信號傳導序列之實例包括來源於TCR ξ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD8、CD22、CD79a、CD79b及CD66d之初始細胞質信號傳導序列。在一些實施例中，CAR中之細胞質信號傳導分子含有細胞質信號傳導域、其一部分，或來源於CD3 ξ 的序列。

在一些實施例中，CAR包括共刺激受體(諸如CD28、4-1BB、OX40、DAP10或ICOS，或CD27)之信號傳導域及/或跨膜部分。在一些態樣中，相同CAR包括活化組分與共刺激組分。

在一些實施例中，活化域(例如CD3 ξ)包括於一個CAR內，而共刺激組分(例如CD28或4-1BB)由識別另一抗原的另一個CAR提供。在一些實施例中，CARs包括均表現於相同細胞上的活化或刺激CARs、共刺激CARs (參見WO2014/055668)。在一些態樣中，靶向CD19的CAR為刺激或活化CAR；在其他態樣中，其為共刺激CAR。在一些實施例中，細胞進一步包括抑制性CARs (iCARs，參見Fedorov等人，*Sci. Transl. Medicine*, 5(215)(2013年12月)，諸如識別除CD19之外之抗原的CAR，其中藉由抑制性CAR結合至其配位體來減弱或抑制經由靶向CD19之CAR遞送的活化信號，以例如減少脫靶影響。

在一些實施例中，重組受體(諸如CAR)的細胞內信號傳導組分包含CD3 ξ 細胞內域及共刺激信號傳導區。在某些實施例中，細胞內信號傳導域包含與CD3 (例如CD3- ξ)細胞內域連接的CD28跨膜域及信號傳導域。在一些實施例中，細胞內信號傳導域包含連接至CD3 ξ 細胞內域的嵌合CD28及/或CD137 (4-1BB，TNFRSF9)共刺激域。

在一些實施例中，CAR在細胞質部分中包含一或多個(例如兩個

或兩個以上)共刺激域及活化域(例如初始活化域)。例示性CARs包括CD3- ξ 、CD28及4-1BB的細胞內組分。

在一些實施例中，CAR或其他抗原受體進一步包括標記物，諸如細胞表面標記物，其可用於確認表現受體(諸如細胞表面受體之截短形式，諸如截短之EGFR (tEGFR))之細胞得到轉導或工程改造。在一些態樣中，標記物包括CD34、NGFR或表皮生長因子受體(例如tEGFR)或其功能變異體的全部或一部分(例如截短形式)。在一些實施例中，編碼標記物的核酸可操作地連接於編碼連接子序列(諸如可裂解連接子序列，例如T2A)的聚核苷酸。舉例而言，標記物及視情況存在之連接子序列可為如公開之專利申請案第WO2014031687號中所揭示之的任一者。舉例而言，標記物可為視情況連接至連接子序列(諸如T2A可裂解連接子序列)的截短EGFR (tEGFR)。截短EGFR (例如tEGFR)的例示性多肽包含SEQ ID NO: 138中所述之胺基酸序列或展現與SEQ ID NO: 138至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於99%序列一致的胺基酸序列。例示性T2A連接子序列包含SEQ ID NO: 137中所述之胺基酸序列或展現與SEQ ID NO: 137至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於99%序列一致的胺基酸序列。

在一些實施例中，標記物為非天然發現於T細胞上或非天然發現於T細胞表面上的分子，例如細胞表面蛋白質，或其一部分。

在一些實施例中，分子為非自身分子，例如非自身蛋白質，亦即不能被細胞所接受性轉移之宿主之免疫系統識別為「自身」的分子。

在一些實施例中，標記物不具有治療功能且/或不產生除用作基因工程改造之標記物(例如用於選擇成功地經工程改造之細胞)之外的

作用。在其他實施例中，標記物可為以其他方式發揮一些所要作用的治療分子，諸如細胞在活體內所遇到的配位體，諸如共刺激或免疫檢查點分子，以在授受性轉移時增強且/或減弱細胞反應且與配位體相遇。

在一些情況下，CARs稱為第一、第二及/或第三代CARs。在一些態樣中，第一代CAR為僅在抗原結合時提供CD3鏈誘導信號的CAR；在一些態樣中，第二代CARs為提供此信號及共刺激信號的CARs，諸如包括來自共刺激受體(諸如CD28或CD137)之細胞內信號傳導域的CAR；在一些態樣中，第三代CAR在一些態樣中為包括不同共刺激受體之多個共刺激域的CAR。

在一些實施例中，嵌合抗原受體包括含有本文所述之抗體或片段的細胞外部分。在一些態樣中，嵌合抗原受體包括含有本文所述之抗體或片段及細胞內信號傳導域的細胞外部分。在一些實施例中，抗體或片段包括scFv且細胞內域含有ITAM。在一些態樣中，細胞內信號傳導域包括CD3- ξ (CD3 ζ)鏈之 ξ 鏈的信號傳導域。在一些實施例中，嵌合抗原受體包括連接胞外域及細胞內信號傳導域的跨膜域。在一些態樣中，跨膜域含有CD28之跨膜部分。胞外域與跨膜域可直接或間接連接。在一些實施例中，胞外域與跨膜域係藉由間隔子(諸如本文所述之任何間隔子)連接。在一些實施例中，受體含有跨膜域所來源之分子的細胞外部分，諸如CD28細胞外部分。在一些實施例中，嵌合抗原受體含有來源於T細胞共刺激分子或其功能變異體的細胞內域，諸如介於跨膜域與細胞內信號傳導域之間的細胞內域。在一些態樣中，T細胞共刺激分子為CD28或41BB。

舉例而言，在一些實施例中，CAR含有抗體，例如本文提供之抗體片段、作為或含有CD28或其功能變異體之跨膜部分的跨膜域，及含有CD28或其功能變異體之信號傳導部分及CD3 ξ 或其功能變異體之

信號傳導部分的細胞內信號傳導域。在一些實施例中，CAR含有抗體，例如本文提供之抗體片段、作為或含有CD28或其功能變異體之跨膜部分的跨膜域，及含有4-1BB或其功能變異體之信號傳導部分及CD3 ξ 或其功能變異體之信號傳導部分的細胞內信號傳導域。在一些此類實施例中，受體進一步包括含有Ig分子(諸如人類Ig分子)之一部分的間隔子，諸如Ig鉸鏈，例如IgG4鉸鏈，諸如單獨鉸鏈間隔子。

在一些實施例中，重組受體(例如CAR)之跨膜域為或包括人類CD28或其變異體之跨膜域(例如寄存編號P01747.1)，諸如包含SEQ ID NO: 129中所述之胺基酸序列或展現與SEQ ID NO: 129至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於99%序列一致之胺基酸序列的跨膜域；在一些實施例中，含有重組受體之一部分的跨膜域包含SEQ ID NO: 130中所述之胺基酸序列或與其具有至少或約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於99%序列一致性的胺基酸序列。

在一些實施例中，重組受體(例如CAR)之細胞內信號傳導組分含有人類CD28或其功能性變異體或一部分之細胞內共刺激信號傳導域，諸如原生CD28蛋白質之位置186-187發生LL經GG取代的域。舉例而言，細胞內信號傳導域可包含SEQ ID NO: 131或132中所述之胺基酸序列或展現與SEQ ID NO: 131或132至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於99%序列一致性的胺基酸序列。在一些實施例中，細胞內域包含4-1BB (例如寄存編號Q07011.1)或其功能性變異體或一部分的細胞內共刺激信號傳導域，諸如SEQ ID NO: 133中所述之胺基酸序列或展現與SEQ ID NO: 133至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於

99%序列一致的胺基酸序列。

在一些實施例中，重組受體(例如CAR)之細胞內信號傳導域包含人類CD3 ξ 刺激性信號傳導域或其功能性變異體，諸如人類CD3 ζ 之同功異型物3之112 AA細胞質域(寄存編號：P20963.2)或CD3 ξ 信號傳導域，如美國專利第7,446,190號或美國專利第8,911,993號中所述。舉例而言，在一些實施例中，細胞內信號傳導域包含胺基酸序列134、135或136或展現與SEQ ID NO: 134、135或136至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於99%序列一致的胺基酸序列。

在一些態樣中，間隔子含有IgG之單獨鉸鏈區，諸如IgG4或IgG1之單獨鉸鏈，諸如SEQ ID NO: 124中所述之單獨鉸鏈間隔子。在其他實施例中，間隔子為或含有Ig鉸鏈，例如來源於IgG4之鉸鏈，其視情況連接至CH2及/或CH3域。在一些實施例中，間隔子為連接至CH2及CH3域的Ig鉸鏈，例如IgG4鉸鏈，諸如SEQ ID NO: 127中所述。在一些實施例中，間隔子為連接至單獨CH3域的Ig鉸鏈，例如IgG4鉸鏈，諸如SEQ ID NO: 126中所述。在一些實施例中，間隔子為或包含富含甘胺酸-絲胺酸的序列或其他柔性連接子，諸如已知柔性連接子。

舉例而言，在一些實施例中，CAR包括抗CD19抗體，諸如抗CD19抗體片段，諸如所提供之人類抗CD19抗體中的任一者，例如單鏈抗體，包括本文所述之scFvs；間隔子，諸如含有免疫球蛋白分子之一部分的間隔子，諸如重鏈分子之鉸鏈區及/或一或多個恆定區，諸如含有Ig鉸鏈的間隔子；含有來源於CD28之跨膜域之全部或一部分的跨膜域、來源於CD28之細胞內信號傳導域及CD3 ξ 信號傳導域。在一些實施例中，CAR包括抗CD19抗體或片段，諸如人類抗CD19抗體中的任一者，包括本文所述之scFvs；間隔子，諸如含有Ig鉸鏈之間隔子中的任一者；來源於CD28之跨膜域、來源於4-1BB之細胞內信

號傳導域，及來源於CD3 ξ 之信號傳導域。

在一些實施例中，此類CAR構築體進一步包括T2A核糖體跨越元件及/或tEGFR序列，例如CAR下游，諸如分別在SEQ ID NO: 137及/或138中所述，或展現與SEQ ID NO: 137或138至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或大於99%序列一致的胺基酸序列。

C. 經工程改造之細胞

亦提供細胞、細胞群及組合物，其含有細胞，例如經工程改造之細胞，該等細胞含有經工程改造之抗原受體，例如含有包括本文所述之抗CD19抗體或片段之胞外域的經工程改造之抗原受體。組合物中有用於投藥的醫藥組合物及調配物，諸如用於授受細胞療法。亦提供向個體(例如患者)投與細胞及組合物的治療方法。

因此亦提供表現含有抗體之重組受體的經基因工程改造之細胞，例如含有CARs的細胞。細胞通常為真核細胞，諸如哺乳動物細胞，且典型地為人類細胞。在一些實施例中，細胞來源於血液、骨髓、淋巴或淋巴器官，為免疫系統細胞，諸如先天性或後天性免疫細胞，例如骨髓或淋巴細胞，包括淋巴球，典型地為T細胞及/或NK細胞。其他例示性細胞包括幹細胞，諸如多潛能及多能幹細胞，包括經誘導之多能幹細胞(iPSCs)。細胞典型地為初始細胞，諸如直接自個體分離出的細胞及/或自個體分離且經冷凍的細胞。在一些實施例中，細胞包括T細胞或其他細胞類型之一或多種亞群，諸如完整T細胞群、CD4⁺細胞、CD8⁺細胞及其亞群，諸如根據以下定義之彼等：功能、活化狀態、成熟度、分化潛能、擴增、再循環、位置及/或持久能力、抗原專一性、抗原受體類型、特定器官或區室中之存在、標記物或細胞激素分泌概況及/或分化程度。提及所治療之個體時，細胞可為同種異體細胞及/或自體細胞。方法包括現成方法。在一些態

樣中，諸如在現成技術中，細胞為多能及/或多潛能細胞，諸如幹細胞，諸如經誘導之多能幹細胞(iPSCs)。在一些實施例中，方法包括如本文所述自個體分離出細胞、對其進行製備、處理、培養及/或工程改造，及低溫保存之前或之後將其再引入同一患者中。

T細胞及/或CD4⁺ T細胞及/或CD8⁺ T細胞的亞型及亞群為未處理T (T_N)細胞、效應子T細胞(T_{EFF})、記憶T細胞及其亞型，諸如幹細胞記憶T (T_{SCM})、中樞記憶T (T_{CM})、效應子記憶T (T_{EM})或末期分化效應子記憶T細胞；腫瘤浸潤性淋巴球(TIL)、不成熟T細胞、成熟T細胞、輔助T細胞、細胞毒性T細胞、黏膜相關不變T (MAIT)細胞、天然存在及適應性調節T (Treg)細胞、輔助T細胞，諸如TH1細胞、TH2細胞、TH3細胞、TH17細胞、TH9細胞、TH22細胞、濾泡性輔助T細胞； α/β T細胞及 δ/γ T細胞。

在一些實施例中，細胞為天然殺手(NK)細胞。在一些實施例中，細胞為單核細胞或粒細胞，例如骨髓細胞、巨噬細胞、嗜中性球、樹突狀細胞、肥大細胞、嗜伊紅血球及/或嗜鹼性血球。

在一些實施例中，細胞包括經由基因工程改造所引入的一或多種核酸且藉此表現此類核酸的重組產物或基因工程改造產物。在一些實施例中，核酸為異源核酸，亦即細胞或獲自細胞之樣品中通常不存在的核酸，諸如獲自另一生物體或細胞的核酸，在經工程改造之細胞及/或此類細胞所來源之生物體中通常未發現此類核酸。在一些實施例中，核酸為非天然存在之核酸，諸如自然界中未發現之核酸，包括包含編碼來自多種不同細胞類型之不同域之核酸之嵌合組合的核酸。

用於基因工程改造的載體及方法

亦提供用於表現結合分子(包括包含抗體的受體)及用於產生表現此類結合分子之經基因工程改造之細胞的方法、核酸、組合物及套組，基因工程改造通常包括將編碼重組組分或經工程改造之組分的核

酸引入細胞內，諸如藉由逆轉錄病毒轉導、轉染或轉型來引入。

在一些實施例中，基因轉移如下完成：首先刺激細胞，諸如藉由將細胞與誘導反應(諸如增殖、存活及/或活化，例如如根據細胞激素或活化標記物之表現所量測)之刺激物合併，隨後轉導活化細胞，且培養擴增至足夠臨床應用的數目。

在一些情形中，刺激因子(例如淋巴激素或細胞激素)之過度表現可能使個體中毒。因此，在一些情形中，經工程改造之細胞包括使得細胞容易接受活體內負向選擇(諸如以授受性免疫療法投藥時)的基因區段。舉例而言，在一些態樣中，細胞經工程改造以使得其可作為其所投與之患者之活體內條件變化的結果排除。負向選擇性表型可為賦予所投藥劑(例如化合物)敏感性之基因插入的結果。負向選擇性基因包括賦予更昔洛韋(ganciclovir)敏感性的單純性疱疹病毒I型胸苷激酶(HSV-I TK)基因(Wigler等人, Cell 11:223, 1977)；細胞次黃嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HPRT)基因、細胞腺嘌呤磷酸核糖基轉移酶(APRT)基因、細菌胞嘧啶脫胺酶(Mullen等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:33 (1992))。

在一些態樣中，細胞進一步經工程改造以促進細胞激素或其他因子表現。用於引入經基因工程改造之組分(例如抗原受體，例如CARs)的各種方法已熟知且可聯合所提供之方法及組合物使用。例示性方法包括轉移編碼受體之核酸的方法，包括經由病毒，例如逆轉錄病毒或慢病毒；轉導、轉座子及電穿孔。

在一些實施例中，使用重組感染性病毒顆粒(諸如來源於猴病毒40 (SV40)、腺病毒、腺相關病毒(AAV)的載體)將重組核酸轉移至細胞中。在一些實施例中，使用重組慢病毒載體或逆轉錄病毒載體(諸如 γ -逆轉錄病毒載體)將重組核酸轉移至T細胞中(參見例如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(11): 550-557 。

在一些實施例中，逆轉錄病毒載體具有長末端重複序列(LTR)，例如來源於莫洛尼鼠白血病毒(Moloney murine leukemia virus, MoMLV)、骨髓增生性肉瘤病毒(MPSV)、鼠類胚幹細胞病毒(MESV)、鼠類幹細胞病毒(MSCV)、脾病灶形成病毒(SFFV)，或腺相關病毒(AAV)。大部分逆轉錄病毒載體來源於鼠類逆轉錄病毒。在一些實施例中，逆轉錄病毒包括來源於任何禽鳥或哺乳動物細胞來源的彼等物。逆轉錄病毒典型地具有雙嗜性，意謂其能夠感染若干物種(包括人類)之宿主細胞。在一個實施例中，所表現的基因置換逆轉錄病毒gag、pol及/或env序列。多種說明性逆轉錄病毒系統已有描述(例如美國專利第5,219,740號；第6,207,453號；第5,219,740號；Miller及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；及Boris-Lawrie及Temin (1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3:102-109。

慢病毒轉導方法已知。例示性方法描述於例如Wang等人 (2012) *J. Immunother.* 35(9): 689-701；Cooper等人 (2003) *Blood*. 101:1637-1644；Verhoeven等人 (2009) *Methods Mol Biol.* 506: 97-114；及Cavalieri等人 (2003) *Blood*. 102(2): 497-505。

在一些實施例中，重組核酸經由電穿孔轉移至T細胞中(參見例如Chicaybam等人, (2013) *PLoS ONE* 8(3): e60298及Van Tedeloo等人, (2000) *Gene Therapy* 7(16): 1431-1437)。在一些實施例中，重組核酸經由轉位轉移至T細胞中(參見例如Manuri等人 (2010) *Hum Gene Ther* 21(4): 427-437；Sharma等人 (2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2, e74；及

Huang等人 (2009) *Methods Mol Biol* 506: 115-126)。遺傳物質引入且表現於免疫細胞中之其他方法包括磷酸鈣轉染(例如如 *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley&Sons, New York, N.Y.中所述)、原生質體融合、陽離子脂質體介導轉染；鎢顆粒促進微粒轟擊(Johnston, *Nature*, 346:776-777 (1990))；及磷酸鋇DNA共沈澱(Brash等人, *Mol. Cell Biol.*, 7:2031-2034 (1987))。

用於轉移編碼重組產物之核酸的其他方法及載體為例如國際專利申請公開案第WO2014055668號及美國專利第7,446,190號中所述的彼等。

用於引入的其他核酸(例如基因)為改良治療功效(諸如促進所轉移細胞之存活力及/或功能)的核酸；為選擇及/或評價細胞(諸如評估活體內存活或定位)提供遺傳標記物的基因；改善安全的基因，例如藉由使得細胞容易接受活體內負向選擇，如 Lupton S. D. 等人, *Mol. and Cell Biol.*, 11:6 (1991)；及Riddell等人, *Human Gene Therapy* 3: 319-338 (1992)所述；亦參見Lupton等人之公開案PCT/US91/08442及PCT/US94/05601，其描述經由顯性正向選擇性標記物與負向選擇性標記物融合所得之雙功能選擇性融合基因的用途。參見例如Riddell等人之美國專利第6,040,177號之第14-17欄。

製備用於工程改造之細胞

在一些實施例中，經工程改造之細胞的製備包括一或多個培養及/或製備步驟。供CD19結合分子(例如CAR)引入的細胞可自樣品分離，諸如生物樣品，例如獲自或來源於個體的生物樣品。在一些實施例中，經分離細胞所來自的個體為患有疾病或病狀或需要細胞療法的個體或細胞療法將投與的個體。在一些實施例中，個體為需要特定治療性干預(諸如對細胞進行分離、處理及/或工程改造的授受細胞療法)的人類。

因此，在一些實施例中，細胞為初始細胞，例如初始人類細胞。樣品包括組織、流體及直接獲自個體的其他樣品，以及經由一或多個處理步驟(諸如分離、離心、基因工程改造(例如經病毒載體轉導)、洗滌及/或培育)產生的樣品。生物樣品可為直接獲自生物學來源的樣品或經處理之樣品。生物樣品包括(但不限於)體液，諸如血液、血漿、血清、腦脊髓液、滑液、尿液及汗水、組織及器官樣品，包括來源於其的經處理樣品。

在一些態樣中，所得或經分離之細胞所來自的樣品為血液或血液源樣品，或為或來源於清除術或白血球清除術產物。例示性樣品包括全血、周邊血液單核細胞(PBMCs)、白血球、骨髓、胸腺、組織活體檢查、腫瘤、白血病、淋巴瘤、淋巴結、腸道相關淋巴組織、黏膜相關淋巴組織、脾、其他淋巴組織、肝臟、肺、胃、腸、結腸、腎臟、胰臟、乳房、骨、前列腺、子宮頸、睪丸、卵巢、扁桃體或其他器官，及/或來源於其的細胞。在細胞療法(例如授受細胞療法)之情形中，樣品包括自體及同種異體來源的樣品。

在一些實施例中，細胞來源於細胞株，例如T細胞株。在一些實施例中，細胞獲自異種來源，例如小鼠、大鼠、非人類靈長類動物及豬。

在一些實施例中，細胞的分離包括一或多個製備步驟及/或基於非親和力之細胞分離步驟。在一些實例中，對細胞進行洗滌、離心且/或在一或多種試劑存在下培育，以例如移除非所需組分、富集所要組分、溶解或移除對特定試劑敏感的細胞。在一些實例中，根據一或多種特性(諸如密度、黏附特性、尺寸、敏感性及/或對特定組分的耐受性)分離細胞。

在一些實例中，獲得個體循環血液中之細胞，例如藉由清除術或白血球清除術獲得。在一些態樣中，樣品含有淋巴球，包括T細

胞，單核細胞，粒細胞，B細胞，其他成核白血球，紅血球及/或血小板，且在一些態樣中含有除紅血球及血小板之外的細胞。

在一些實施例中，對自個體收集的血細胞進行洗滌，例如以移除血漿部分及將細胞置放於適當緩衝液或培養基中用於後續處理步驟。在一些實施例中，細胞用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)洗滌。在一些實施例中，洗滌溶液缺乏鈣及/或鎂及/或多種或全部二價陽離子。在一些態樣中，利用半自動化「流過」式離心機(例如Cobe 2991細胞處理器Baxter)，根據製造商說明書完成洗滌步驟。在一些態樣中，根據製造商說明書，藉由切向流過濾(TFF)完成洗滌步驟。在一些實施例中，將細胞在洗滌之後再懸浮於多種生物相容性緩衝液(諸如無 $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ 之PBS)中。在某些實施例中，移除血細胞樣品中的組分且將細胞直接再懸浮於培養基中。

在一些實施例中，方法包括基於密度之細胞分離方法，諸如藉由溶解紅血球而自周邊血液製備白血球及經由Percoll或Ficoll梯度離心。

在一些實施例中，分離方法包括根據一或多種專一性分子(諸如表面標記物(例如表面蛋白質)、細胞內標記物或核酸)在細胞中之表現或存在來分離不同細胞類型。在一些實施例中，可使用根據此類標記物分離的任何已知方法。在一些實施例中，分離為基於親和力或免疫親和力之分離。舉例而言，在一些態樣中，分離包括根據一或多種標記物(典型地為細胞表面標記物)之細胞表現或表現量分離細胞及細胞群，例如藉由與專一性結合至此類標記物的抗體或結合搭配物一起培育，隨後通常進行洗滌步驟且將已結合抗體或結合搭配物的細胞與尚未結合至抗體或結合搭配物的彼等細胞分離。

此類分離步驟可基於正向選擇，其中保留已結合試劑的細胞供進一步使用；及/或負向選擇，其中保留尚未結合至抗體或結合搭配

物的細胞。在一些實例中，保留兩種溶離份供進一步使用。在一些態樣中，負向選擇可為特別適用的，其中專一性鑑別非均質群體中之細胞類型的抗體無法獲得，因此基於除所要群體之外之細胞所表現的標記物進行分離最佳。

分離無需對表現特定標記物之特定細胞群或細胞進行100%富集或移除。舉例而言，特定類型之細胞(諸如表現標記物之細胞)的正向選擇或富集係指提高此類細胞的數目或百分比，但無需使得不表現標記物的細胞完全不存在。同樣，特定類型之細胞(諸如表現標記物的細胞)的負向選擇、移除或耗乏係指此類細胞之數目或百分比的降低，但無需使得所有此類細胞完全移除。

在一些實例中，進行多輪分離步驟，其中對來自一個步驟的正向或負向選擇溶離份進行另一個分離步驟，諸如後續正向或負向選擇。在一些實例中，單一分離步驟能耗乏同時表現多種標記物的細胞，諸如藉由將細胞與各自對負向選擇所靶向之標記物具專一性之多種抗體或結合搭配物一起培育。同樣，多種細胞類型能夠同時藉由將細胞與各種細胞類型上所表現之多種抗體或結合搭配物一起培育來進行正向選擇。

舉例而言，在一些態樣中，特定的T細胞亞群，諸如對一或多種表面標記物(例如CD28⁺、CD62L⁺、CCR7⁺、CD27⁺、CD127⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺及/或CD45RO⁺ T細胞)呈陽性或高量表現此等標記物的細胞，係藉由正向或負向選擇技術加以分離。

舉例而言，CD3⁺、CD28⁺ T細胞可使用CD3/CD28結合的磁性珠粒(例如DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T細胞擴增器)進行正向選擇。

在一些實施例中，分離如下進行：藉由正向選擇富集特定細胞群，或藉由負向選擇耗乏特定細胞群。在一些實施例中，正向或負向

選擇如下完成：將細胞與一或多種專一性結合至一或多種表面標記物的抗體或其他結合劑一起培育來完成選擇，該等表面標記物分別在正向或負向選擇的細胞上表現(標記物⁺)或以相對較高的量(標記物^高)表現。

在一些實施例中，藉由對非T細胞(諸如B細胞、單核細胞或其他白血球)上所表現的標記物(諸如CD14)進行負向選擇而將T細胞與PBMC樣品分離。在一些態樣中，使用CD4⁺或CD8⁺選擇步驟分離CD4⁺輔助細胞及CD8⁺細胞毒性T細胞。此類CD4⁺及CD8⁺群體可藉由對一或多種未處理、記憶及/或效應子T細胞亞群上所表現或表現至相對較高程度的標記物進行正向或負向選擇而進一步分選成亞群。

在一些實施例中，針對未處理、中樞記憶、效應子記憶及/或中樞記憶幹細胞進一步富集或耗乏CD8⁺細胞，諸如藉由基於與各別亞群相關之表面抗原的正向或負向選擇。在一些實施例中，針對中樞記憶T (T_{CM})細胞進行富集以提高功效，諸如在投藥之後改良長期存活率、擴增及/或移植，在一些態樣中，功效在此類亞群中特別穩定。參見 Terakura 等人，(2012) *Blood*.1:72-82；Wang 等人，(2012) *J Immunother.* 35(9):689-701。在一些實施例中，將T_{CM}富集CD8⁺ T細胞與CD4⁺ T細胞組合進一步增強功效。

在實施例中，記憶T細胞存在於CD8⁺周邊血液淋巴球之CD62L⁺與CD62L⁻亞群中。可在CD62L⁻CD8⁺及/或CD62L⁺CD8⁺溶離份中富集或耗乏PBMC，諸如使用抗CD8及抗CD62L抗體來富集或耗乏。

在一些實施例中，中樞記憶T (T_{CM})細胞的富集係基於CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3及/或CD 127之表面表現呈陽性或表現較高；在一些態樣中，其係基於對表現或高度表現CD45RA及/或顆粒酶B之細胞進行的負向選擇。在一些態樣中，藉由耗乏表現CD4、CD14、CD45RA的細胞及正向選擇或富集表現CD62L的細胞來分離在

T_{CM} 細胞中富集的 $CD8^+$ 群體。在一個態樣中，如下在中樞記憶T (T_{CM})細胞中進行富集：以根據 $CD4$ 表現所選擇之陰性細胞溶離份為起始物，根據 $CD14$ 及 $CD45RA$ 之表現進行負向選擇且根據 $CD62L$ 進行正向選擇。此等選擇在一些態樣中係同時進行且在其他態樣中依序(依任一次序)進行。在一些態樣中，製備 $CD8^+$ 細胞群或亞群所用的基於 $CD4$ 表現之相同選擇步驟亦用於產生 $CD4^+$ 細胞群或亞群，從而保留基於 $CD4$ 之分離所得的陽性與陰性溶離份且用於方法之後續步驟，視情況在一或多個其他正向或負向選擇步驟之後。

在一個特定實例中，對PBMCs樣品或其他白血球樣品進行 $CD4^+$ 細胞之選擇，其中保留陰性與陽性溶離份。陰性溶離份接著根據 $CD14$ 及 $CD45RA$ 或 $CD19$ 之表現進行負向選擇，且根據中樞記憶T細胞之標記物特徵(諸如 $CD62L$ 或 $CCR7$)進行正向選擇，其中正向選擇及負向選擇係以任一次序進行。

藉由鑑別具有細胞表面抗原的細胞群將 $CD4^+$ T輔助細胞分選為未處理、中樞記憶及效應子細胞。 $CD4^+$ 淋巴球可藉由標準方法獲得。在一些實施例中，未處理 $CD4^+$ T淋巴球為 $CD45RO^-$ 、 $CD45RA^+$ 、 $CD62L^+$ 、 $CD4^+$ T細胞。在一些實施例中，中樞記憶 $CD4^+$ 細胞為 $CD62L^+$ 及 $CD45RO^+$ 。在一些實施例中，效應子 $CD4^+$ 細胞為 $CD62L^-$ 及 $CD45RO^-$ 。

在一個實例中，為了藉由負向選擇來富集 $CD4^+$ 細胞，單株抗體混合物典型地包括針對 $CD14$ 、 $CD20$ 、 $CD11b$ 、 $CD16$ 、HLA-DR及 $CD8$ 之抗體。在一些實施例中，抗體或結合搭配物結合至固體載體或基質，諸如磁性珠粒或順磁珠粒，以便根據正向及/或負向選擇來分離細胞。舉例而言，在一些實施例中，細胞及細胞群係使用免疫磁性(或親和磁性)分離技術分離或單離(回顧於Methods in Molecular Medicine, 第 58 卷: Metastasis Research Protocols, 第 2 卷: Cell

Behavior In Vitro and In Vivo, 第17-25頁, 編輯為 S.A.Brooks 及 U.Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ)。

在一些態樣中, 所分離之細胞之樣品或組合物係與可磁化或磁性反應的小物質(諸如磁性反應顆粒或微粒, 諸如順磁珠粒(例如 Dynalbeads或MACS珠粒))一起培育。磁性反應物質(例如顆粒)通常直接或間接連接至結合搭配物, 例如抗體, 其專一性結合至欲分離(例如欲進行負向或正向選擇)之細胞或細胞群中所存在的分子, 例如表面標記物。

在一些實施例中, 磁性顆粒或珠粒包含結合至專一性結合成員(諸如抗體或其他結合搭配物)的磁性反應物質。磁性分離方法中所用的熟知磁性反應物質有多種。適合的磁性顆粒包括Molday之美國專利第4,452,773號及歐洲專利說明書EP 452342 B中所述之彼等物, 該等專利以引用的方式併入本文中。膠態尺寸化顆粒(諸如Owen之美國專利第4,795,698號及Liberti等人之美國專利第5,200,084號中所述之彼等物)為其他實例。

培育通常在藉以使連接至磁性顆粒或珠粒的抗體或結合搭配物或專一性結合至此類抗體或結合搭配物之分子(諸如二次抗體或其他試劑)專一性結合至細胞表面分子(若存在於樣品內之細胞上)的條件下進行。

在一些態樣中, 將樣品置放於磁場中, 且連接至磁性反應或可磁化顆粒的彼等細胞將吸引至磁體且與未標記之細胞分離。正向選擇時, 吸引至磁體的細胞得以保留; 負向選擇時, 未吸引的細胞(未標記之細胞)得以保留。在一些態樣中, 在相同選擇步驟期間進行正向選擇與負向選擇之組合, 其中保留陽性及陰性溶離份且進一步處理或進行進一步分離步驟。

在某些實施例中, 磁性反應顆粒塗有一次抗體或其他結合搭配

物、二次抗體、凝集素、酶或抗生蛋白鏈菌素。在某些實施例中，磁性顆粒經由對一或多種標記物具專一性之一次抗體的塗佈而連接至細胞。在某些實施例中，細胞(而非珠粒)經一次抗體或結合搭配物標記，接著添加經對細胞類型具專一性之二次抗體或其他結合搭配物(例如抗生蛋白鏈菌素)塗佈的磁性顆粒。在某些實施例中，經抗生蛋白鏈菌素塗佈的磁性顆粒結合生物素化一次或二次抗體使用。

在一些實施例中，磁性反應顆粒保持連接至細胞，隨後培育、培養且/或經工程改造；在一些態樣中，顆粒保持連接至細胞用於投與患者。在一些實施例中，自細胞移除可磁化或磁性反應顆粒。自細胞移除可磁化顆粒的方法已知且包括例如使用未經標記之競爭性抗體、可磁化顆粒或抗體與可裂解連接子之結合物等。在一些實施例中，可磁化顆粒具生物可降解性。

在一些實施例中，基於親和力之選擇係經由磁性活化細胞分選術(MACS)(Miltenyi Biotech, Auburn, CA)。磁性活化細胞分選術(MACS)系統能夠高純度選擇連接至磁化顆粒的細胞。在某些實施例中，MACS係以其中施加外部磁場之後依序溶離非標靶及標靶物質的模式操作。亦即，連接至磁化顆粒的細胞保持在適當位置，同時溶離未連接之物質。接著，完成此第一溶離步驟之後，用磁場捕集物質且防止以脫除的一些方式溶離，以便其可溶離及回收。在某些實施例中，非標靶細胞經標記且自非均質細胞群中耗乏。

在某些實施例中，使用執行方法之單離、細胞製備、分離、處理、培育、培養且/或調配步驟中之一或多者的系統、裝置或設備進行單離或分離。在一些態樣中，系統用於在封閉或無菌環境中執行此等步驟中之每一者，以例如最小化誤差、使用者操作及/或污染。在一個實例中，系統為如國際專利申請公開案第WO2009/072003號或US 20110003380 A1中所述之系統。

在一些實施例中，系統或設備執行分離、處理、工程改造及調配步驟中之一或多者，例如在整合式或整裝式系統中執行分離、處理、工程改造及調配步驟之全部，及/或以自動化或可程式化方式執行。在一些態樣中，系統或設備包括與系統或設備通信的電腦及/或電腦程式，從而允許使用者程式化、控制、評估處理、分離、工程改造及調配步驟之結果及/或調整其各個方面。

在一些態樣中，分離及/或其他步驟係使用例如在封閉的無菌系統中、在臨床規模水準自動化分離細胞的CliniMACS系統(Miltenyi Biotec)進行。組件可包括整合式微電腦、磁性分離單元、蠕動泵及各種夾閥。在一些態樣中，整合式電腦控制儀器之所有組件且導引系統依標準化順序執行重複程序。在一些態樣中，磁性分離單元包括可移動永久磁體及用於選擇管柱之固持器。蠕動泵控制通過整個管組的流速且連同夾閥一起確保控制緩衝液通過系統之流動及細胞之持續懸浮。

在一些態樣中，CliniMACS系統使用以無菌非熱解溶液供應的抗體偶聯可磁化顆粒。在一些實施例中，細胞經磁性顆粒標記之後，洗滌細胞以移除過量顆粒。接著使細胞製劑袋連接至管組，管組又連接至含有緩衝液之袋及細胞收集袋。管組由預組裝之無菌管組成，包括前管柱及分離管柱，且僅用於單次使用。起始分離程式之後，系統自動地將細胞樣品施加至分離管柱上。經標記之細胞保留於管柱內，而未標記之細胞藉由一系列洗滌步驟移除。在一些實施例中，適用於本文所述方法的細胞群未標記且未保留於管柱中。在一些實施例中，適用於本文所述方法的細胞群經標記且保留於管柱中。在一些實施例中，移除磁場之後，自管柱溶離適用於本文所述方法的細胞群，且收集於細胞收集袋內。

在某些實施例中，使用CliniMACS Prodigy系統(Miltenyi Biotec)

執行分離及/或其他步驟。在一些態樣中，CliniMACS Prodigy系統裝備有允許自動化洗滌及藉由離心對細胞進行分級分離的細胞處理單元。CliniMACS Prodigy系統亦可包括機載照相機及影像識別軟體，該軟體藉由辨別源細胞產物之宏觀層來確定最佳的細胞分級分離終點。舉例而言，周邊血液自動分離成紅血球、白血球及血漿層。CliniMACS Prodigy系統亦可包括整合式細胞培養室，從而完成細胞培養方案，諸如細胞分化及擴增、抗原負載量及長期細胞培養。輸入埠能允許對培養基進行無菌移除及補充且可使用整合式顯微鏡監測細胞。參見例如Klebanoff等人，(2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660；Terakura 等人，(2012) *Blood*.1:72-82；及Wang 等人，(2012) *J Immunother.* 35(9):689-701。

在一些實施例中，本文所述之細胞群經由流式細胞術收集及富集(或耗乏)，其中經多種細胞表面標記物染色之細胞運載於流體流中。在一些實施例中，本文所述之細胞群經由製備級(FACS)分選術收集及富集(或耗乏)。在某些實施例中，本文所述之細胞群係藉由使用微機電系統(MEMS)晶片與基於FACS之偵測系統之組合來收集及富集(或耗乏)(參見例如WO 2010/033140, Cho等人(2010) *Lab Chip* 10, 1567-1573；及Godin等人(2008) *J Biophoton.* 1(5):355-376。在兩種情況下，細胞可經多種標記物標記，從而允許對經明確定義的T細胞亞群進行分離。

在一些實施例中，抗體或結合搭配物經一或多種可偵測標記物標記，以促進根據正向及/或負向選擇進行的分離。舉例而言，分離可基於與經螢光標記之抗體的結合。在一些實例中，根據對一或多種細胞表面標記物具專一性之抗體或其他結合搭配物之結合分離的細胞運載於流體流中，諸如藉由螢光活化細胞分選術(FACS)，包括製備級(FACS)及/或微機電系統(MEMS)晶片，例如與流式細胞學偵測系統之

組合。此類方法允許根據多種標記物同時進行正向及負向選擇。

在一些實施例中，製備方法包括在分離、培育及/或工程改造之前或之後，冷凍(例如低溫保藏)細胞的步驟。在一些實施例中，冷凍及隨後解凍步驟移除粒細胞且在一定程度上移除細胞群中的單核細胞。在一些實施例中，將細胞懸浮於冷凍溶液中，例如在洗滌步驟之後將細胞懸浮於冷凍溶液中，以移除血漿及血小板。在一些態樣中，可使用多種已知冷凍溶液及參數中的任一者。一個實例包括使用含有20% DMSO及8%人類血清白蛋白(HSA)的PBS，或其他適合的細胞冷凍介質。接著用培養基1:1稀釋，使得DMSO及HSA的最終濃度分別為10%及4%。細胞接著以每分鐘1°C之速率冷凍至-80°C且在氣相液氮儲槽中儲存。

在一些實施例中，所提供方法包括栽培、培育、培養及/或基因工程改造步驟。舉例而言，在一些實施例中，提供對所耗乏之細胞群進行培育及/或工程改造的方法及培養起始型組合物。

因此，在一些實施例中，細胞群在培養起始型組合物中培育。培育及/或工程改造可在培養容器中進行，諸如用於培養或培育細胞的單元、腔室、孔、管柱、管、管組、閥、小瓶、培養盤、袋或其他容器。

在一些實施例中，細胞在基因工程改造之前或配合基因工程改造進行培育及/或培養。培育步驟可包括培養、栽培、刺激、活化及/或繁殖。在一些實施例中，組合物或細胞係在刺激條件或刺激劑存在下培育。此類條件包括經設計以誘導群體中之細胞增殖、擴增、活化及/或存活、模擬抗原暴露及/或將用於基因工程改造的細胞致敏，諸如引入重組抗原受體。

該等條件可包括以下一或多者：特定培養基、溫度、氧氣含量、二氧化碳含量、時間、藥劑，例如營養物、胺基酸、抗生素、離

子及/或刺激因子，諸如細胞激素、趨化激素、抗原、結合搭配物、融合蛋白、重組可溶性受體及經設計以活化細胞的任何其他藥劑。

在一些實施例中，刺激條件或藥劑包括一或多種能夠活化TCR複合物中之細胞內信號傳導域的藥劑，例如配位體。在一些態樣中，藥劑開啟或起始T細胞中之TCR/CD3細胞內信號傳導級聯。此類藥劑可包括抗體，諸如對TCR組分及/或共刺激受體(例如抗CD3、抗CD28，例如結合至固體載體，諸如珠粒)及/或一或多種細胞激素具專一性的抗體。視情況，擴增方法可進一步包含向培養基中添加抗CD3及/或抗CD28抗體(例如以至少約0.5 ng/ml之濃度添加)的步驟。在一些實施例中，刺激劑包括IL-2及/或IL-15，例如至少約10個單位/毫升濃度的IL-2。

在一些態樣中，根據諸如以下文獻中所述之技術進行培育：Riddell等人之美國專利第6,040,177號；Klebanoff等人，(2012) J Immunother. 35(9): 651-660；Terakura等人，(2012) Blood.1:72-82；及/或Wang等人，(2012) J Immunother. 35(9):689-701。

在一些實施例中，藉由向培養起始型組合物中添加飼養細胞，諸如非分裂周邊血液單核細胞(PBMC)(例如使得所得細胞群含有每個T淋巴細胞至少約5、10、20或40或超過40個PBMC飼養細胞於待擴增的初始群體中)；且培育培養物(例如足以擴增T細胞數目的時間)來擴增T細胞。在一些態樣中，非分裂飼養細胞可包含 γ 輻射PBMC飼養細胞。在一些實施例中，PBMC經約3000拉德(rads)至3600拉德範圍內之 γ 射線輻射以防止細胞分裂。在一些態樣中，添加T細胞群之前，向培養基中添加飼養細胞。

在一些實施例中，刺激條件包括適用於人類T淋巴球生長的溫度，例如至少約25攝氏度，通常至少約30度，且通常為37或約37攝氏度。視情況，培育可進一步包含添加非分裂EBV轉型類淋巴母細胞

(LCL)作為飼養細胞。LCL可經約6000拉德至10,000拉德範圍內之 γ 射線輻射。在一些態樣中，LCL飼養細胞係以任何適合量提供，諸如LCL飼養細胞與初始T淋巴球之至少約10:1之比率。

在實施例中，藉由抗原刺激未處理或抗原專一性T淋巴球來獲得抗原專一性T細胞，諸如抗原專一性CD4+及/或CD8+ T細胞。舉例而言，可藉由自經感染之個體分離處T細胞且活體外用相同抗原刺激細胞來產生針對細胞巨大病毒抗原的抗原專一性T細胞株或純系。

II. 組合物、方法及用途

亦提供包括CD19結合分子及經工程改造之細胞的組合物(包括醫藥組合物及調配物)；以及使用該等分子及組合物的方法及該等分子及組合物的用途，諸如用於治療表現CD19的疾病、病狀及病症；及/或偵測、診斷及預後方法。

A. 醫藥組合物及調配物

提供醫藥調配物，其包括CD19結合分子(例如抗體或嵌合受體)及/或表現該等分子的經工程改造之細胞。醫藥組合物及調配物通常包括一或多種視情況存在之醫藥學上可接受之載劑或賦形劑。在一些實施例中，組合物包括至少一種其他治療劑。

術語「醫藥調配物」係指所呈形式允許其中所含活性成分之生物活性有效發揮的製劑，且其不含對調配物將投與之個體具有不可接受毒性之其他組分。

「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中之除活性成分外之對個體無毒的成分。醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

在一些態樣中，載劑的選擇部分地根據特定細胞、結合分子及/或抗體及/或藉由投藥方法決定。因此，存在多種適合調配物。舉例而言，醫藥組合物可含有防腐劑。適合的防腐劑可包括例如對羥基苯

甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、苯甲酸鈉及苯紮氯銨(benzalkonium chloride)。在一些態樣中，使用兩種或兩種以上防腐劑之混合物。防腐劑或其混合物典型地以總組合物重量之約0.0001%至約2%的量存在。載劑描述於例如Remington's Pharmaceutical Sciences第16版，Osol, A.編(1980)中。醫藥學上可接受之載劑在所用劑量及濃度下通常對接受者無毒，且包括(但不限於)：緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如氯化十八烷基二甲基苯甲基銨；氯化六羥季銨；苯紮氯銨；苄索氯銨(benzethonium chloride)；苯酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烷酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、雙醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如EDTA；糖類，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子型界面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。

在一些態樣中，組合物中包括緩衝劑。適合的緩衝劑包括例如檸檬酸、檸檬酸鈉、磷酸、磷酸鉀以及各種其他酸及鹽。在一些態樣中，使用兩種或兩種以上緩衝劑之混合物。緩衝劑或其混合物典型地以總組合物重量之約0.001%至約4%的量存在。製備可投與之醫藥組合物的方法已為人所知。例示性方法更詳細地描述於例如Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 第21版(2005年5月1日)。

抗體調配物可包括凍乾調配物及水溶液。

調配物或組合物亦可含有超過一種適用於特定適應症、疾病或

病狀的活性成分，該適應症、疾病或病狀係用結合分子或細胞(較佳具有與結合分子或細胞互補之活性的彼等物)治療，其中各別活性彼此間無不利影響。此類活性成分宜以對預期目的有效之量存在於組合中。因此，在一些實施例中，醫藥組合物進一步包括其他醫藥活性劑或藥物，諸如化學治療劑，例如天冬醯胺酶、白消安(busulfan)、卡鉑、順鉑、道諾黴素、小紅莓、氟尿嘧啶、吉西他濱(gemcitabine)、羥脲、甲胺喋呤、太平洋紫杉醇、利妥昔單抗(rituximab)、長春鹼、長春新鹼等。在一些實施例中，細胞或抗體係以鹽(例如醫藥學上可接受之鹽)形式投與。適合的醫藥學上可接受之酸加成鹽包括衍生自無機酸及有機酸的彼等物，無機酸諸如鹽酸、氫溴酸、磷酸、偏磷酸、硝酸及硫酸，有機酸諸如酒石酸、乙酸、檸檬酸、蘋果酸、乳酸、反丁烯二酸、苯甲酸、乙醇酸、葡萄糖酸、丁二酸及芳基磺酸，例如對甲苯磺酸。

活性成分可截留於微膠囊、膠態藥物遞送系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米顆粒及奈米膠囊)或巨乳液中。在某些實施例中，醫藥組合物調配為包合錯合物，諸如環糊精包合錯合物；或調配為脂質體。脂質體可用於使宿主細胞(例如T細胞或NK細胞)靶向特定組織。可利用多種方法製備脂質體，諸如以下文獻中所述之方法：例如Szoka等人, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 9: 467 (1980)，及美國專利4,235,871、4,501,728、4,837,028及5,019,369。

在一些態樣中，醫藥組合物可使用定時釋放型、延遲釋放型及持續釋放型遞送系統，使得組合物的遞送係在所治療之部位敏感化之前發生及在足以引起所治療之部位敏感化的時間後發生。多種類型的釋放遞送系統可利用且已知。此類系統可避免重複投與組合物，從而提高個體及醫師的便利性。

在一些實施例中，醫藥組合物含有有效治療或預防疾病或病狀

之量的結合分子及/或細胞，諸如治療有效量或預防有效量。在一些實施例中，藉由定期評估所治療的個體來監測治療或預防功效。重複投藥數日或更長時間時，視病狀而定，重複治療直至疾病症狀出現所需抑止。然而，可使用且可確定其他給藥方案。所要劑量可藉由單次推注投與組合物、藉由多次推注投與組合物或藉由連續輸注投與組合物來遞送。

在某些實施例中，在基因工程改造之細胞含有結合分子之情形中，向個體投與範圍為約一百萬至約1000億個細胞，諸如1百萬至約500億細胞(例如約5百萬細胞、約2500萬細胞、約5億細胞、約10億細胞、約50億細胞、約200億細胞、約300億細胞、約400億細胞，或任何兩個前述值所限定的範圍)，諸如約1千萬至約1000億細胞(例如約2千萬細胞、約3千萬細胞、約4千萬細胞、約6千萬細胞、約7千萬細胞、約8千萬細胞、約9千萬細胞、約100億細胞、約250億細胞、約500億細胞、約750億細胞、約900億細胞，或任何兩個前述值所限定的範圍)，且在一些情況下為約1億細胞至約500億細胞(例如約1.2億細胞、約2.5億細胞、約3.5億細胞、約4.5億細胞、約6.5億細胞、約8億細胞、約9億細胞、約30億細胞、約300億細胞、約450億細胞)或此等範圍之間的任何值，且/或此細胞數目以個體之每公斤體重計。

可使用標準投藥技術、調配物及/或裝置投藥。提供調配物及用於儲存及投與組合物的裝置，諸如注射器及小瓶。投與細胞可為自體或異源的。舉例而言，可自一位個體獲得免疫反應性細胞或祖細胞，且投與相同個體或不同的相容個體。來源於周邊血液的免疫反應性細胞或其後代(例如活體內、離體或活體外來源)可經由局域化注射投與，包括導管投與、全身性注射、局域化注射、靜脈內注射或非經腸投與。當投與治療性組合物(例如含有經基因修飾之免疫反應性細胞的醫藥組合物)時，其通常調配成單位劑量可注射形式(溶液、懸浮

液、乳液)。

調配物包括口腔、靜脈內、腹膜內、皮下、肺部、經皮、肌肉內、鼻內、頰內、舌下或栓劑投與的調配物。在一些實施例中，細胞群係非經腸投與。如本文所用，術語「非經腸」包括靜脈內、肌肉內、皮下、直腸、陰道及腹膜內投與。在一些實施例中，細胞群係利用周邊全身性遞送、藉由靜脈內、腹膜內或皮下注射來投與個體。

在一些實施例中，組合物係以無菌液體製劑形式提供，例如等張性水溶液、懸浮液、乳液、分散液或黏稠組合物，在一些態樣中，其可緩衝至選定的pH。液體製劑的製備通常比凝膠、其他黏稠組合物及固體組合物更容易。另外，液體組合物的投與在某種程度上更方便，尤其藉由注射投與。另一方面，黏稠組合物可在適當黏度範圍內調配以使得與特定組織接觸的時段更長。液體或黏稠組合物可包含載劑，載劑可為含有例如水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、多元醇(例如甘油、丙二醇、液體聚乙二醇)及其適合混合物的溶劑或分散介質。

無菌可注射溶液可藉由將結合分子併入溶劑(諸如與適合載劑、稀釋劑或賦形劑(諸如無菌水、生理鹽水、葡萄糖、右旋糖或其類似物)混合)來製備。組合物亦可凍乾。組合物可含有輔助物質，諸如濕潤劑、分散劑或乳化劑(例如甲基纖維素)、pH緩衝劑、膠凝或黏度增強添加劑、防腐劑、調味劑、顏料及類似物，此視投藥途徑及所要製劑而定。在一些態樣中，可查詢標準文本以製備適合製劑。

可添加增強組合物之穩定性及無菌性的各種添加劑，包括抗微生物防腐劑、抗氧化劑、螯合劑及緩衝劑。可藉由各種抗細菌劑及抗真菌劑(例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸及其類似物)來確保防止微生物之作用。可注射醫藥形式之延長吸收可藉由使用延遲吸收劑(諸如單硬脂酸鋁及明膠)來實現。

可製備持續釋放型製劑。持續釋放型製劑之適合實例包括含有

抗體之固體疏水性聚合物之半滲透基質，該等基質呈成形製品形式，例如薄膜或微膠囊。

用於活體內投與之調配物通常為無菌的。無菌性可容易地藉由例如經由無菌過濾膜過濾來實現。

B. 治療性及預防性方法及用途

亦提供使用CD19結合分子(包括抗CD19抗體，例如抗體片段)及/或表現重組受體之經工程改造之細胞的方法及其用途。此等方法及用途包括治療性方法及用途，例如包括將分子、細胞或含有其的組合物投與患有疾病、病狀或病症的個體，該疾病、病狀或病症表現CD19或與CD19表現相關，及/或其中細胞或組織表現CD19。在一些實施例中，分子、細胞及/或組合物係以有效量投與以實現疾病或病症的治療。用途包括抗體及細胞用於此等方法及治療的用途及用於製備藥物以便執行此等治療性方法的用途。在一些實施例中，該等方法係藉由將抗體或細胞或包含其的組合物投與患有或懷疑患有疾病或病狀的個體來進行。在一些實施例中，該等方法從而治療個體的疾病或病狀或病症。

如本文所用，「治療(treatment)」(及其文法變化形式，諸如「治療(treat)」或「治療(treating)」)係指疾病或病狀或病症，或症狀、不良作用或結果，或與其相關之表型，出現完全或部分的改善或減輕。所需治療作用包括(但不限於)預防疾病發生或復發、緩解症狀、減輕疾病之任何直接或間接病理性後果、預防轉移、降低疾病進展速率、改善或緩和疾病病況及緩解或改善預後。該術語不表示疾病之完全治癒或任何症狀之完全排除或對所有症狀或結果均有作用。

如本文所用，「延遲疾病發展」意謂延緩、阻礙、減緩、阻滯、穩定及/或延遲疾病(諸如癌症)之發展。此延遲可為不同時間長度，此視疾病病史及/或所治療的個體而定。如熟習此項技術者顯而易見，

足夠或顯著延遲可實際上涵蓋預防，從而使個體不出現疾病。舉例而言，可延遲晚期癌症，諸如轉移發展。

如本文所用，「預防」包括在個體之疾病發生或復發方面提供預防作用，該個體可能具有患病傾向，但尚未診斷患有該疾病。在一些實施例中，所提供之分子及組合物用於延遲疾病發展或減慢疾病進展。

如本文所用，「抑止」功能或活性為相較於原本相同的條件(除所關注之條件或參數外)，或者相較於其他條件，功能或活性降低。舉例而言，相較於抗體或組合物或細胞不存在下的腫瘤生長速率，抑止腫瘤生長的抗體或組合物或細胞使腫瘤生長速率降低。

藥劑(例如醫藥調配物、結合分子、抗體或細胞，或組合物)在投與情形中的「有效量」係指在必需劑量下及在必需時間段內有效達成所要結果(諸如治療性或預防性結果)的量。

藥劑(例如醫藥調配物、抗體或細胞)的「治療有效量」係指在必需劑量下及在必需時間段內有效達成所要治療結果(諸如治療疾病、病狀或病症，及/或治療之藥物動力學或藥效學作用)的量。治療有效量可根據諸如以下因素來變化：疾病病況、個體之年齡、性別及體重，及所投細胞群。在一些實施例中，所提供的方法包括投與有效量(例如治療有效量)的分子、細胞及/或組合物。

「預防有效量」係指在必需劑量下且在必需時間段內有效達成所需預防結果之量。由於個體在患病之前或在疾病早期使用預防劑量，因此預防有效量典型地(但不一定)小於治療有效量。

如本文所用，「個體」為哺乳動物，諸如人類或其他動物，且典型地為人類。疾病及病症包括B細胞惡性疾病，諸如B細胞白血病及淋巴瘤，包括B細胞慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)、前淋巴細胞性白血病、毛細胞白血病、常見急性淋巴

細胞性白血病、無標記急性淋巴母細胞性白血病、非霍奇金氏淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCLs)、多發性骨髓瘤、濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、惰性B細胞淋巴瘤、霍奇金氏淋巴瘤。自體免疫及發炎疾病(包括與B細胞數目及/或活化不適當或增強相關的疾病)亦為該等疾病及病狀之一。例示性疾病及病狀包括多發性硬化症、類風濕性關節炎及全身性紅斑狼瘡(SLE)。

在一些實施例中，個體患有持久性或復發疾病，例如在用另一種CD19專一性抗體及/或表現CD19靶向嵌合受體的細胞及/或其他療法(包括化學療法、輻射及/或造血幹細胞移植(HSCT)，例如同種異體HSCT)治療之後患有持久性或復發疾病。在一些實施例中，儘管個體對另一種CD19靶向療法變得具有耐藥性，但投藥有效地治療個體。在一些實施例中，個體未復發，但經測定處於復發風險中，諸如處於高復發風險中，且因此預防性投與化合物或組合物，以例如降低復發可能性或防止復發。

在一些實施例中，治療未能誘導個體對療法的免疫反應，且/或未在妨礙有效治療疾病或病狀的程度上誘導此反應。在一些態樣中，免疫原性程度及/或移植物抗宿主反應小於使用不同但類似療法所觀測者。舉例而言，相較於包括與所提供抗體(諸如小鼠抗體)結合至類似(例如重疊)抗原決定基且/或競爭結合至CD19之不同抗體的CAR，在授受細胞療法使用表現包括所提供之抗CD19抗體之CAR之細胞的情況下，免疫原性程度降低。

在一些實施例中，方法包括授受細胞療法，其中將表現所提供之含抗CD19受體(例如靶向CD19 CAR)的經基因工程改造之細胞投與個體。此類投藥可促進細胞以靶向CD19的方式活化(例如T細胞活化)，從而靶向疾病或病症的細胞以便摧毀。

因此，所提供的方法及用途包括授受細胞療法的方法及用途。

在一些實施例中，方法包括向個體、組織或細胞(諸如患有疾病、病狀或病症，處於疾病、病狀或病症之風險中或懷疑患有疾病、病狀或病症)投與細胞或含有細胞的組合物。在一些實施例中，細胞、群體及組合物投與患有欲治療之特定疾病或病狀的個體，例如經由授受細胞療法(諸如授受性T細胞療法)投與。在一些實施例中，細胞或組合物投與個體，諸如患有疾病或病狀或處於疾病或病狀風險中的個體。在一些態樣中，方法藉此治療(例如改善)疾病或病狀的一或多種症狀，諸如藉由減輕表現CD19之癌症的腫瘤負荷。

投與用於授受細胞療法之細胞的方法已知且可聯合所提供之方法及組合物使用。舉例而言，授受性T細胞治療方法描述於例如 Gruenberg 等人之美國專利申請公開案第2003/0170238號；Rosenberg 之美國專利第4,690,915號；Rosenberg (2011) Nat Rev Clin Oncol. 8(10):577-85) 中。參見例如 Themeli 等人 (2013) Nat Biotechnol. 31(10): 928-933；Tsukahara 等人 (2013) Biochem Biophys Res Commun 438(1): 84-9；Davila 等人 (2013) PLoS ONE 8(4): e61338。

在一些實施例中，細胞療法(例如授受細胞療法，例如授受性T細胞療法)係藉由自體轉移來進行，其中分離細胞且/或以其他方式自將接受細胞療法之個體或自來源於此個體之樣品製備細胞。因此，在一些態樣中，細胞來源於需要治療之個體，例如患者，且細胞在分離及處理之後投與同一個體。

在一些實施例中，細胞療法(例如授受細胞療法，例如授受性T細胞療法)係藉由同種異體轉移來進行，其中分離細胞且/或以其他方式自除將接受或最終接受細胞療法之個體(例如第一個體)之外的個體製備細胞。在此類實施例中，接著將細胞投與相同物種之不同個體，例如第二個體。在一些實施例中，第一及第二個體在遺傳上相同。在一些實施例中，第一及第二個體在遺傳上類似。在一些實施例中，第二

個體表現的HLA種類或超類型與第一個體相同。

在一些實施例中，細胞、細胞群或組合物所投與的個體為靈長類動物，諸如人類。在一些實施例中，靈長類動物為猴或猿。個體可為雄性或雌性且可為任何適齡(包括嬰兒、幼年、青年、成年及老年)個體。在一些實施例中，個體為非靈長類動物哺乳動物，諸如啮齒動物。在一些實施例中，患者或個體為經驗證之動物疾病模型，其需要接受細胞療法及/或用於評估毒性結果，諸如細胞激素釋放症候群(CRS)。

CD19結合分子(諸如抗體及含有抗體之嵌合受體)及表現其之細胞可藉由任何適合方式投與，例如注射，例如靜脈內或皮下注射、眼內注射、眼周注射、視網膜下注射、玻璃體內注射、經中隔注射、鞏膜下注射、脈絡膜內注射、前房內注射、結膜下注射(subconjunctival injection)、結膜下注射(subconjunctival injection)、眼球筋膜囊下注射(sub-Tenon's injection)、眼球後注射、眼球周注射，或後近鞏膜遞送。在一些實施例中，其藉由非經腸、肺內及鼻內途徑投與，且在局部治療需要時，病灶內投與。非經腸輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投藥。給藥及投藥可部分地視投藥是否為短暫或長期而定。各種給藥時程包括(但不限於)單次投藥或在不同時間點多次投藥、推注投藥及脈動輸注。

預防或治療疾病時，結合分子或細胞的適當劑量可視以下而定：所治療之疾病類型、結合分子類型、疾病之嚴重程度及病程、結合分子是否為了預防或治療目的而投與、先前療法、患者臨床病史及對結合分子的反應，及主治醫師之判斷。在一些實施例中，組合物及分子及細胞宜一次性或經一系列治療而投與患者。

視疾病類型及嚴重程度而定，抗體劑量可包括約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至15 mg/kg (例如0.1 mg/kg -10 mg/kg)、約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至100 mg/kg 或大於100

mg/kg、約0.05 mg/kg至約10 mg/kg、0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg或10 mg/kg。可間歇地投與多次劑量，例如每週或每三週。初始可投與較高起始劑量，隨後可投與一或多次較低劑量。

在某些實施例中，在基因工程改造之細胞含有結合分子之情形中，向個體投與範圍為約一百萬至約1000億細胞及/或以每公斤體重計的該細胞量，諸如1百萬至約500億細胞(例如約5百萬細胞、約2.5千萬細胞、約5億細胞、約10億細胞、約50億細胞、約200億細胞、約300億細胞、約400億細胞，或藉由任何兩個前述值限定的範圍)，諸如約1千萬至約1000億細胞(例如約2千萬細胞、約3千萬細胞、約4千萬細胞、約6千萬細胞、約7千萬細胞、約8千萬細胞、約9千萬細胞、約100億細胞、約250億細胞、約500億細胞、約750億細胞、約900億細胞，或藉由任何兩個前述值限定的範圍)，且在一些情況下，為約1億細胞至約500億細胞(例如約1.2億細胞、約2.5億細胞、約3.5億細胞、約4.5億細胞、約6.5億細胞、約8億細胞、約9億細胞、約30億細胞、約300億細胞、約450億細胞)或此等範圍之間及/或以每公斤體重計的任何值。此外，劑量可根據疾病或病症特有的性質及/或患者及/或其他療法而變化。

在一些實施例中，細胞或抗體係作為組合療法的一部分投與，諸如與另一種治療性干預(諸如另一種抗體或經工程改造之細胞或受體或藥劑，諸如細胞毒性劑或治療劑)同時投與或以任何次序依序投與。

在一些實施例中，細胞或抗體係與一或多種其他治療劑共投與或聯合另一種治療性干預同時或以任何次序依序投與。在一些情形中，細胞與另一療法在足夠接近的時間上共投與，使得細胞群增強一或多種其他治療劑之作用，或反之亦然。在一些實施例中，細胞或抗體係在一或多種其他治療劑之前投與。在一些實施例中，細胞或抗體

係在一或多種其他治療劑之後投與。

在一些態樣中，細胞投與哺乳動物(例如人類)之後，藉由多種已知方法中的任一者量測經工程改造之細胞群及/或抗體的生物活性。評估參數包括經工程改造或天然T細胞或其他免疫細胞在活體內對抗原的專一性結合，例如藉由成像或離體分析，例如藉由ELISA或流式細胞術。在某些實施例中，經工程改造之細胞摧毀靶細胞的能力可使用此項技術中已知的任何適合方法量測，諸如以下文獻中所述之細胞毒性分析：例如Kochenderfer等人，*J. Immunotherapy*, 32(7): 689-702 (2009)，及Herman等人，*J. Immunological Methods*, 285(1): 25-40 (2004)。在某些實施例中，細胞生物活性亦可藉由分析某些細胞激素(諸如CD 107a、IFN γ 、IL-2及TNF)的表現及/或分泌來量測。在一些態樣中，藉由評估臨床結果(諸如腫瘤負荷或負載的減小)來量測生物活性。

在某些實施例中，經工程改造之細胞係以多種方式修飾，從而增加其治療或預防功效。舉例而言，群體所表現之經工程改造之CAR或TCR可與靶向部分直接結合或經由連接子間接結合。使化合物(例如CAR或TCR)與靶向部分結合的實務在此項技術中已知。參見例如Wadwa等人，*J. Drug Targeting* 3: 1 1 1 (1995)，及美國專利5,087,616。

C. 診斷及偵測方法

亦提供包括以下之方法：使用所提供之結合分子(例如抗體，包括抗體片段，及含有此類抗體中之一或多者的分子(諸如結合物及複合物))偵測、預後、診斷、分期、測定特定療法對一或多種組織或細胞類型的結合，及/或告知個體治療決定，諸如藉由偵測CD19及/或抗體所識別之其抗原決定基的存在。在一些實施例中，方法為與表現CD19之疾病或病狀有關的診斷及/或預後方法。在一些實施例中，方

法包括將生物樣品與抗體一起培育及/或探測及/或將抗體投與個體。在某些實施例中，生物樣品包括細胞或組織或其一部分，諸如腫瘤或癌症組織或其活組織檢查或切片。在某些實施例中，接觸係在允許抗CD19抗體結合至存在於樣品中之CD19的條件下進行。在一些實施例中，方法進一步包括偵測抗CD19抗體與樣品中之CD19之間是否形成複合物，諸如偵測此類結合的存在或不存在或程度。此類方法可為活體外或活體內方法。在一個實施例中，抗CD19抗體用於選擇適合用抗CD19抗體或經工程改造之抗原受體治療的個體，例如其中CD19為用於選擇患者之生物標記。

在一些實施例中，使樣品(諸如細胞、組織樣品、溶胞物、組合物，或來源於其的其他樣品)與抗CD19抗體接觸且測定或偵測抗體與樣品(例如含有CD19的樣品)之間的結合或複合物形成。當證明或偵測到測試樣品中的結合(相較於相同組織類型之參考細胞)時，其可表示存在相關疾病或病狀，及/或治療劑所含抗體(例如抗體片段)專一性結合至與樣品所來源之組織或細胞或其他生物材料相同或屬於相同類型的組織或細胞。在一些實施例中，樣品來自人類組織且可來自患病及/或正常組織，例如來自患有欲治療之疾病或病狀的個體及/或來自物種與此個體相同、但未患有欲治療之疾病或病狀之個體。在一些情況下，正常組織或細胞來自患有欲治療之疾病或病狀的個體，但本身不為患病細胞或組織，諸如來自與存在於指定個體中之癌症相同或不同器官的正常組織。

可使用此項技術中已知用於偵測專一性抗體-抗原結合的各種方法。例示性免疫分析包括螢光偏振免疫分析(FPIA)、螢光免疫分析(FIA)、酶免疫分析(EIA)、散射濁度抑制免疫分析(nephelometric inhibition immunoassay, NIA)、酶聯免疫吸附分析(ELISA)及放射免疫分析(RIA)。指示部分或標記群組可連接至個體抗體且經選擇以便

滿足該方法之各種用途之需要，該等用途通常由分析設備及相容性免疫分析程序的可獲得性決定。例示性標記包括放射性核素(例如 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、 ^3H 或 ^{32}P 及/或鉻(^{51}Cr)、鈷(^{57}Co)、氟(^{18}F)、釷(^{153}Gd 、 ^{159}Gd)、鍺(^{68}Ge)、釷(^{166}Ho)、銦(^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In)、碘(^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I)、鐳(^{140}La)、鐳(^{177}Lu)、錳(^{54}Mn)、鉬(^{99}Mo)、鈀(^{103}Pd)、磷(^{32}P)、鐳(^{142}Pr)、鉅(^{149}Pm)、銻(^{186}Re 、 ^{188}Re)、銻(^{105}Rh)、鈦(^{97}Ru)、釷(^{153}Sm)、釷(^{47}Sc)、硒(^{75}Se)、(^{85}Sr)、硫(^{35}S)、鎳(^{99}Tc)、鈦(^{201}Ti)、錫(^{113}Sn 、 ^{117}Sn)、氫(^3H)、氙(^{133}Xe)、鐳(^{169}Yb 、 ^{175}Yb)、釷(^{90}Y)、酶(例如鹼性磷酸酶、辣根過氧化酶、螢光素酶或 β -半乳糖苷酶)、螢光部分或蛋白質(例如螢光素、若丹明(rhodamine)、藻紅素、GFP或BFP)，或發光部分(例如Quantum Dot Corporation, Palo Alto, Calif.供應的Qdot™奈米粒子)。用於執行上述各種免疫分析的各種通用技術已為人所知。

出於診斷之目的，抗體可經可偵測部分(包括(但不限於)放射性同位素、螢光標記及此項技術中已知的各種酶受質標記)標記。標記與抗體結合的方法在此項技術中已知。

在一些實施例中，抗體無需經標記，且其存在可使用結合至任一種抗體的經標記抗體偵測。

本文提供的抗體可用於任何已知的分析方法，諸如競爭性結合分析、直接及間接夾心分析，及免疫沈澱分析。Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, 第147-158頁(CRC Press, Inc. 1987)。

抗體及多肽亦可用於活體內診斷分析，諸如活體內成像。一般而言，抗體經放射性核素(諸如 ^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{14}C 、 ^{131}I 、 ^{125}I 或 ^3H)標記，使得在投與個體後，可對所關注之細胞或組織進行活體內定位。

抗體亦可在病理學中用作染色試劑，例如使用已知技術。

III. 製品

亦提供製品，其含有所提供的結合分子，例如抗體及CARs及/或基因工程改造之細胞，及/或組合物。製品可包括容器及附於或系連於容器之標籤或藥品說明書。適合容器包括例如瓶子、小瓶、注射器、IV溶液袋等。容器可由諸如玻璃或塑膠之多種材料形成。在一些實施例中，容器裝有單獨或與另一種有效治療、預防及/或診斷病狀之組合物組合的組合物。在一些實施例中，容器具有無菌接取口。例示性容器包括靜脈內溶液袋、小瓶，包括具有可由注射針刺穿之塞子的彼等物。標籤或藥品說明書可指示組合物用於治療表現CD19或與CD19相關之疾病或病狀。製品可包括(a)其中含有組合物的第一容器，其中該組合物包括抗體或經工程改造之抗原受體；及(b)其中含有組合物的第二容器，其中該組合物包括另一種藥劑，諸如細胞毒性劑或另外的治療劑。製品可進一步包括表明組合物可用於治療特定病狀的藥品說明書。或者或另外，製品可進一步包括包含醫藥學上可接受之緩衝液的另一或相同容器。其可進一步包括其他物質，諸如其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及/或注射器。

如本文所用，提及抗體的「相應形式」意謂當比較兩種抗體之特性或活性時，係使用相同的抗體形式比較特性。舉例而言，若陳述抗體活性大於抗體之相應形式的活性，則意謂該抗體之特定形式(諸如scFv)的活性大於第一抗體之scFv形式。

「效應子功能」係指可歸因於抗體之Fc區之彼等生物活性，其隨抗體同型變化。抗體效應子功能之實例包括：C1q結合及補體依賴性細胞毒性(CDC)；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如B細胞受體)之下調；及B細胞活化。

本文中之術語「Fc區」用於定義含有恆定區之至少一部分的免

疫球蛋白重鏈C末端區域。該術語包括原生序列Fc區及變異型Fc區。在一個實施例中，人類IgG重鏈Fc區自Cys226或自Pro230延伸至重鏈之羧基末端。然而，Fc區之C末端離胺酸(Lys447)可存在或可不存在。除非本文另外說明，否則Fc區或恆定區胺基酸殘基之編號係依據EU編號系統，亦稱為EU索引，如Kabat等人, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 第5版，美國公共衛生署，國家衛生研究院，Bethesda, MD 1991中所述。

術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用且係指結構實質上類似於原生抗體結構或具有含有如本文所定義之Fc區之重鏈的抗體。

「經分離之」抗體為已與其天然環境之組分分離之抗體。在一些實施例中，抗體純化至大於95%或99%之純度，如藉由例如電泳(例如SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細管電泳)或層析(例如離子交換或逆相HPLC)所測定。欲回顧用於評估抗體純度之方法，參見例如Flatman等人, *J. Chromatogr. B* 848:79-87 (2007)。

「經分離之」核酸係指已與其天然環境之組分分離之核酸分子。經分離之核酸包括通常含有核酸分子之細胞中所含的核酸分子，但該核酸分子存在於染色體外或存在於不同於其天然染色體位置之染色體位置。

「編碼抗CD19抗體之經分離核酸」係指編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)之一或多種核酸分子，包括單一載體或各別載體中之此類核酸分子及存在於宿主細胞中之一或多個位置處之此類核酸分子。

術語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指已引入外源核酸之細胞，包括此類細胞之後代。宿主細胞包括「轉型體」及「轉型細胞」，其包括初始轉型細胞及來源於其之後代(不考慮繼代次數)。後代之核酸含量可與親本細胞不完全相

同，而且可能含有突變。本文包括所篩選或選擇之與最初轉型細胞具有相同功能或生物活性的突變型後代。

如本文所用，「胺基酸序列一致性百分比(%)」及「一致性百分比」當結合胺基酸序列(參考多肽序列)使用時，定義為在比對序列且在必要時引入空隙以達成序列一致性最大百分比之後且在不考慮作為序列一致性之一部分的任何保守性取代的情況下，與參考多肽序列之胺基酸殘基一致之候選序列(例如個體抗體或片段)中之胺基酸殘基的百分比。出於測定胺基酸序列一致性百分比之目的之比對可以此項技術中之技能範圍內的各種方式達成，例如使用公開可獲得的電腦軟體，如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign (DNASTAR)軟體。熟習此項技術者可確定適用於比對序列之參數，包括在所比較序列之全長內達成最大比對所需的任何算法。

胺基酸取代可包括多肽中之一個胺基酸經另一個胺基酸置換。例示性取代顯示於表1中。胺基酸取代可引入所關注之結合分子(例如抗體)中且根據所要活性(例如保持/改良之抗原結合、降低之免疫原性，或改良之ADCC或CDC)篩選產物。

胺基酸通常可根據以下共同側鏈特性分組：

- (1)疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- (2)中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- (3)酸性：Asp、Glu；
- (4)鹼性：His、Lys、Arg；
- (5)影響鏈取向之殘基：Gly、Pro；
- (6)芳族：Trp、Tyr、Phe。

非保守取代包括將此等類別中之一者之成員換成另一類別。

如本文所用，術語「載體」係指一種核酸分子，其能夠傳送其所連接之另一種核酸分子。該術語包括作為自複製核酸結構的載體以

及併入其已引入之宿主細胞基因組中的載體。某些載體能夠導引其可操作地連接之核酸的表現。此類載體在本文中稱為「表現載體」。

術語「藥品說明書」用於指通常包括於治療性產品之商業包裝中之說明書，其含有關於適應症、用法、劑量、投藥、組合療法、與使用此類治療性產品有關之禁忌症及/或警告之資訊。

除非本文另外明確規定，否則如本文所用，單數形式「一(a/an)」及「該」包括複數個指示物。舉例而言，「一(a/an)」意謂「至少一種」或「一或多種」。應瞭解，本文所述之態樣及變化形式包括「組成」及/或「主要組成」態樣及變化形式。

在通篇本發明中，所主張之標的物的各種態樣均以範圍形式呈現。應瞭解，範圍形式之描述僅為了方便及簡潔起見且不應解釋為對所主張之標的物之不靈活限制。因此，範圍之描述應視為已特定揭示所有可能的子範圍以及該範圍內之個別數值。舉例而言，在提供值範圍的情況下，應瞭解該範圍之上限與下限之間的每個中間值及該所述範圍內的任何其他所述值或中間值均涵蓋於所主張的標的物內。此等較小範圍之上限及下限可獨立地包括於較小範圍內且亦涵蓋於所主張的標的物內，以所述範圍內的任何特定排他性限值為準。在所述範圍包括一個或兩個限值的情況下，排除彼等包括性限值中之任一者或兩者之範圍亦包括於所主張的標的物中。不管範圍之寬度此均適用。

如本文所用，術語「約」係指熟習此項技術者容易獲知之此技術領域中之各別值的常見誤差範圍。本文中提及「約」某一值或參數包括(且描述)針對該值或參數本身之實施例。舉例而言，提及「約X」之描述包括「X」之描述。

如本文所用，組合物係指兩種或兩種以上產物、物質或化合物(包括細胞)之任何混合物。其可為溶液、懸浮液、液體、粉末、膏劑、水溶液、非水溶液或其任何組合。

如本文所用，細胞或細胞群對於特定標記物呈「陽性」的表述係指特定標記物(典型地為表面標記物)可偵測地存在於細胞表面或細胞內。提及表面標記物時，該術語係指表面表現之存在，如藉由流式細胞術所偵測，例如用專一性結合至標記物之抗體染色及偵測該抗體，其中該染色可藉由流式細胞術、在實質上高於使用同型匹配對照物、在原本相同條件下執行相同程序所偵測之染色的水準下，及/或在實質上類似於已知對標記物呈陽性之細胞的水準下，及/或在實質上高於已知對標記物呈陰性之細胞的水準下偵測到。

如本文所用，細胞或細胞群對特定標記物呈「陰性」的表述係指特定標記物(典型地為表面標記物)沒有實質性可偵測地存在於細胞表面或細胞內。提及表面標記物時，術語係指缺乏表面表現，如藉由流式細胞術所偵測，例如用專一性結合至標記物的抗體染色且偵測該抗體，其中該染色在實質上高於使用同型匹配對照物、在原本相同條件下執行相同程序所偵測之染色的水準下，及/或在實質上低於已知對標記物呈陽性之細胞的水準下，及/或在實質上類似於已知對標記物呈陰性之細胞的水準下不可藉由流式細胞術偵測到。

除非另有定義，否則本文所用之所有技術術語、標識法及其他技術及科學術語意欲具有與所主張標的物相關之一般技術者通常所理解相同的含義。在一些情況下，出於清楚起見及/或方便參考，在本文中定義具有通常所理解含義之術語，且本文中包括此類定義不應必然解釋為表示與此項技術中通常所理解存在實質性差異。

本申請案提及的所有公開案，包括專利文件、科學論文及資料庫，均以全文引用之方式併入本文中用於所有目的，其引用的程度如同各個別公開案以引用的方式個別地併入一般。若本文所闡述之定義與以引用方式併入本文中之專利、申請案、公開申請案及其他公開案中所述之定義相反或另外不一致，則以本文所闡述之定義為準，而非

以以引用方式併入本文中的定義為準。

本文所用之章節標題僅出於組織目的，且不應理解為限制所述標的物。

IV. 例示性實施例

本文提供之實施例為：

1. 一種抗CD19抗體或其抗原結合片段，該抗體或抗原結合片段包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區，其中：

該VH區包含含有SEQ ID NO: 20所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區3 (CDR-H3)，或

該VH區包含與SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62中所述之VH區胺基酸序列至少90%序列一致性。

2. 一種抗體或其抗原結合片段，包含：

CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，其分別包含SEQ ID NO: 11、12、60、61、63或62中所述之VH區胺基酸序列內所含的CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3序列之胺基酸序列；及/或

輕鏈互補決定區1、2及3 (CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3)，其分別包含SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90或91中所述之輕鏈可變(VL)區胺基酸序列內所含之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3序列的胺基酸序列。

3. 一種抗體或其抗原結合片段，包含：

包含胺基酸序列SEQ ID NO: 18之CDR-H1、包含胺基酸序列SEQ ID NO: 81或82之CDR-H2及包含SEQ ID NO: 20所述之胺基酸序列的CDR-H3；及/或

包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)的CDR-L1，其中 X_1 為T、Q、S或R； X_2 為G或A； X_3 為I、T、D或S； X_4 為S、R、T或Q； X_5 為空或S； X_6 為G、D、N或空； X_7 為

空、V或L；X₈為D、G、I、L、S或空；X₉為S、G、A、I、R或空；X₁₀為H、Y、F、S或N；X₁₁為R、N、D、H或Y；X₁₂為Y、F、D或W；X₁₃為V、A或L；且X₁₄為S、N或A；

包含胺基酸序列X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇ (SEQ ID NO: 112)的CDR-L2，其中X₁為D或S；X₂為F、V、N、K或A；X₃為S、T、D或N；X₄為K、V、N、Q或R；X₅為R、V或L；X₆為P、K、A或E；且X₇為S、P、A或T；及

包含胺基酸序列X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂ (SEQ ID NO: 115)的CDR-L3，其中X₁為X；X₂為S、Q、A或T；X₃為Y、S、W、R；X₄為A、D、R、T或Y；X₅為X；X₆為X；X₇為S、P、L、Y、G；X₈為X或空；X₉為X或空；X₁₀為L或空；X₁₁為X；且X₁₂為V、T或L。

4. 如實施例3之抗體或其抗原結合片段，其中：

在該CDR-L1中，X₃為I、T或S；X₄為S、T或Q；X₈為D、G、I、S或空；X₉為S、G、I或空；X₁₀為H、Y、S或N；X₁₁為R、N、D或H；X₁₂為Y或D；且X₁₃為V或L；及/或

在該CDR-L2中，X₁為D；X₄為K、V、N、Q或R；X₆為P、K或A；且X₇為S、A或T；及/或

在該CDR-L3中，X₁為S、G、T、A、Q、C或N；X₅為A、S、P、G、N或D；X₆為I、S、G、T、A、L、H、R或N；X₈為P、T、S、Q、M、R、N或空；X₉為S、L、N、A、M或空；且X₁₁為Y、W、F、V、A或L。

5. 如實施例3或實施例4之抗體或抗原結合片段，其中在該CDR-L3中，X₁為S、G、Q或N；X₂為S、Q或T；X₄為A、D、T或Y；X₅為A、S或G；且X₆為I、S、N、R、A、H或T。

6. 如實施例1至5中任一例之抗體或片段，其中：

該CDR-H2包含SEQ ID NO:19 (GISWNSGRIGYADSVKG)中所述

之胺基酸序列；或

該CDR-H2包含SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG)中所述之胺基酸序列。

7. 如實施例1至6中任一例之抗體或片段，其中該CDR-L1包含SEQ ID NO: 80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28或31中所述之胺基酸序列。

8. 如實施例7之抗體或片段，其中該CDR-L1包含SEQ ID NO: 80、77、74、73、78、21或28中所述之胺基酸序列。

9. 如實施例1至8中任一例之抗體或片段，其中該CDR-L2包含SEQ ID NO: 100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29或32中所述之胺基酸序列。

10. 如實施例9之抗體或片段，其中該CDR-L2包含SEQ ID NO: 100、97、94、93、98、22或29中所述之胺基酸序列。

11. 如實施例1至10中任一例之抗體或片段，其中該CDR-L3包含SEQ ID NO: 109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30或33中所述之胺基酸序列。

12. 如實施例11之抗體或片段，其中該CDR-L3包含SEQ ID NO: 109、106、103、101、107、24或30中所述之胺基酸序列。

13. 如實施例1至12中任一例之抗體或片段，其中：

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 21、22及23之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 21、22及24之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 25、26及27之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 28、29及30

之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 31、32及33之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 80、100及109之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 77、97及106之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 74、94及103之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 73、93及101之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 75、95及104之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 79、99及108之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 78、98及107之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 76、96及105之序列；

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 73、93及102之序列；或

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 77、97及106之序列。

14. 如實施例1至13中任一例之抗體或其抗原結合片段，其中：

該CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含SEQ ID NO: 18、81及20之序列；

該 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 分別包含 SEQ ID NO: 18、19 及 20 之序列；

該 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 分別包含 SEQ ID NO: 18、82 及 20 之序列；或

該 CDR-H1、CDR-H2 及 CDR-H3 分別包含 SEQ ID NO: 18、72 及 20 之序列。

15. 如實施例 1 至 14 中任一例之抗體或片段，其中：

該抗體或片段之 VH 區包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11、12、60、61、63 或 62；及/或

該抗體或片段之 VL 區包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69 或 67。

16. 如實施例 15 之抗體或片段，其中：

該抗體或片段之 VH 區包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11、60、63 或 62；及/或

該抗體或片段之 VL 區包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 14、16、71、90、65、64 或 69。

17. 如實施例 1 至 16 中任一例之抗體或片段，其中：

該抗體或片段之 VH 及 VL 區分別包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 及 17；

該抗體或片段之 VH 及 VL 區分別包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 及 15；

該抗體或片段之 VH 及 VL 區分別包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 及 13；

該抗體或片段之 VH 及 VL 區分別包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 及 14；

該抗體或片段之 VH 及 VL 區分別包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11

及16；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63
及71；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62
及68；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11
及65；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 60
及64；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 61
及66；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63
及70；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62
及69；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12
及67；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12
及91；或

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63
及90。

18. 如實施例17之抗體或片段，其中：

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11
及14；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11
及16；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63及71；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11及65；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 60及64；

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 62及69；或

該抗體或片段之VH及VL區分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 63及90。

19. 如實施例1至18中任一例之抗體或片段，其中該抗體專一性結合至人類CD19。

20. 如實施例19之抗體或片段，其中該抗體專一性結合至與選自由FMC63及SJ25C1組成之群之參考抗CD19抗體所專一性結合之抗原決定基相同或重疊的CD19抗原決定基。

21. 如實施例19之抗體或片段，其中該抗體與選自由FMC63及SJ25C1組成之群的抗CD19抗體競爭結合至CD19。

22. 一種專一性結合至與參考抗體所專一性結合之抗原決定基相同或重疊之CD19抗原決定基的人類抗體片段，其為如實施例1至21中任一例之抗體或其片段或為選自由FMC63及SJ25C1組成之群的抗CD19抗體，該人類抗體片段包含與存在於FMC63及SJ25C1中之CDR不同的重鏈及輕鏈CDR。

23. 一種專一性結合至CD19且與參考抗體競爭結合至CD19的人類抗體片段，其為如實施例1至21中任一例之抗體或片段或為選自由FMC63及SJ25C1組成之群的抗CD19抗體，該抗體片段包含與存在於FMC63及SJ25C1中之CDR不同的重鏈及輕鏈CDR。

24. 如實施例21或23之抗體或片段，其與參考抗體競爭結合至CD19的程度至少與參考抗體與其自身競爭結合至CD19的程度相同，或競爭程度比參考抗體之競爭程度低不超過1.5倍或2倍。

25. 如實施例1至24中任一例之抗體或片段，其中該抗體對CD19的結合親和力至少與選自由FMC63及SJ25C1組成之群之參考抗體對CD19的結合親和力同樣高或實質上同樣高。

26. 如實施例25之抗體或片段，其結合親和力的EC50與參考抗體之EC50約相同或低於參考抗體之EC50或比參考抗體之EC50大不超過約1.5倍或不超過約2倍、不超過3倍及/或不超過10倍。

27. 如實施例1至26中任一例之抗體或片段，其中該抗體或片段為人類抗體或片段。

28. 如實施例1至27中任一例之抗體或片段，其中該抗體或片段為重組抗體或片段。

29. 如實施例1至28中任一例之抗體或片段，其為單株抗體或片段。

30. 如實施例1至29中任一例之抗體或片段，其為單鏈片段。

31. 如實施例1至30中任一例之抗體或片段，其為包含經柔性免疫球蛋白連接子連接之抗體可變區的片段。

32. 如實施例30或31之抗體或片段，其中該片段包含scFv。

33. 如實施例32之抗體或片段，其中該scFv包含含有SEQ ID NO:34所述之序列的连接子。

34. 如實施例32之抗體或片段，其中該scFv包含SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87或89中所述之胺基酸序列。

35. 如實施例1至34中任一例之抗體或片段，其進一步包含免疫球蛋白恆定區之至少一部分。

36. 如實施例35之抗體或片段，其中免疫球蛋白恆定區之該至少一部分包含Fc區。

37. 如實施例36之抗體或片段，其中該Fc區為人類IgG之Fc區。

38. 如實施例1至37中任一例之抗體或片段，其中CD19為人類CD19。

39. 一種嵌合抗原受體(CAR)，其包含含有如實施例1至38中任一例之抗體或片段的細胞外部分及細胞內信號傳導域。

40. 如實施例38之嵌合抗原受體，其中該抗體或片段包含scFv且該細胞內信號傳導域包含ITAM。

41. 如實施例39或40之嵌合抗原受體，其中該細胞內信號傳導域包含CD3- ξ (CD3 ζ)鏈之 ξ 鏈的信號傳導域。

42. 如實施例39至41中任一例之嵌合抗原受體，其進一步包含連接該胞外域及該細胞內信號傳導域的跨膜域。

43. 如實施例42之嵌合抗原受體，其中該跨膜域包含CD28之跨膜部分。

44. 如實施例39至43中任一例之嵌合抗原受體，其進一步包含T細胞共刺激分子之細胞內信號傳導域。

45. 如實施例44之嵌合抗原受體，其中該T細胞共刺激分子係選自由CD28及41BB組成之群。

46. 一種經工程改造之細胞，其表現如實施例39至45中任一例之嵌合抗原受體。

47. 如實施例46之經工程改造之細胞，其為T細胞。

48. 一種治療方法，包含將如實施例46或47之細胞投與患有與CD19相關之疾病或病症的個體。

49. 一種治療方法，包含將如實施例1至38中任一例之抗體投與患有與CD19相關之疾病或病症的個體。

50. 如實施例48或49所述之方法，其中該疾病或病症為B細胞惡性疾病。

51. 如實施例50所述之方法，其中該B細胞惡性疾病係選自由以下組成之群：B細胞慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)、前淋巴細胞性白血病、毛細胞白血病、常見急性淋巴細胞性白血病、無標記急性淋巴母細胞性白血病、非霍奇金氏淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCLs)、多發性骨髓瘤、濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、惰性B細胞淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤。

52. 一種核酸，其編碼如實施例1至38中任一例之抗體或其片段或如實施例39至45中任一例之嵌合抗原受體。

53. 一種組合物，其包含如實施例1至38中任一例之抗體或其片段、如實施例39至45中任一例之CAR，或如實施例46或47之細胞。

54. 一種治療方法，包含將如實施例53之組合物投與患有與CD19相關之疾病或病症的個體。

55. 一種抗體或其抗原結合片段，包含：

重鏈互補決定區1、2及3 (CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3)，其分別包含SEQ ID NO: 11或12中所述之重鏈可變(VH)區胺基酸序列內所含之CDR 1、2及3序列的胺基酸序列；及

輕鏈互補決定區1、2及3 (CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3)，其分別包含SEQ ID NO: 13、14、15、16或17中所述之輕鏈可變(VL)區胺基酸序列內所含之CDR 1、2及3序列的胺基酸序列。

56. 如實施例55之抗體或片段，其中：

該CDR-H1包含胺基酸序列DYAMH (SEQ ID NO: 18)；

該CDR-H2包含胺基酸序列GISWNSGRIGY (SEQ ID NO: 35)；

該CDR-H3包含胺基酸序列SEQ ID NO: 20；

該 CDR-L1 包含胺基酸序列 $X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO: 36)，其中 X_1 為 T、S 或 Q， X_3 為 T、S 或 D， X_4 為 T 或 S， X_5 為空或 S， X_6 為空、D 或 N， X_7 為空或 V， X_8 為空、G 或 I， X_9 為空、G 或 R， X_{10} 為 S、Y 或 N， X_{11} 為 D 或 N， X_{12} 為 D 或 Y， X_{13} 為 V 或 A；

該 CDR-L2 包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4RPS$ (SEQ ID NO: 37)，其中 X_1 為 D 或 S， X_2 為 V、N 或 K， X_3 為 S、N 或 D，且 X_4 為 K、Q 或 N；及

該 CDR-L3 包含胺基酸序列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 38)，其中 X_1 為 C、S、A、G 或 N， X_2 為 S、A 或 T， X_3 為 Y、W 或 R， X_4 為 A 或 D， X_5 為 G、D 或 S， X_6 為 R、S 或 N， X_7 為 Y、L 或 G， X_8 為 N 或 S， X_9 為 S 或空， X_{10} 為 V、A 或 N， X_{11} 為 W 或空，且 X_{12} 為 L 或 V。

57. 如實施例 56 之抗體或片段，其中：在 CDR-L1 中， X_1 為 T 或 S， X_3 為 T 或 S， X_{11} 為 D 或 N，且 X_{13} 為 V；在 CDR-L2 中， X_2 為 V 或 N 且 X_4 為 K 或 Q；且/或在 CDR-L3 中， X_1 為 C、S、A 或 G， X_3 為 Y 或 W， X_5 為 G 或 D， X_7 為 Y 或 L， X_{10} 為 V 或 A，且 X_{11} 為空。

58. 如實施例 55 至 57 中任一例之抗體或片段，其中該 CDR-H2 包含 SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG) 中所述之胺基酸序列。

59. 如實施例 55 至 58 中任一例之抗體或片段，其中該 CDR-L1 包含 SEQ ID NO: 21、25、28 或 31 中所述之序列。

60. 如實施例 55 至 59 中任一例之抗體或片段，其中該 CDR-L2 包含 SEQ ID NO: 22、26、29 或 32 中所述之序列。

61. 如實施例 55 至 60 中任一例之抗體或片段，其中該 CDR-L3 包含 SEQ ID NO: 23、24、27、30 或 33 中所述之序列。

62. 如實施例 55 至 61 中任一例之抗體或片段，其中：

該 CDRL1、CDR-L2 及 CDR-L3 分別包含 SEQ ID NO: 21、22 及 23 之序列；

該CDRL1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 21、22及24之序列；

該CDRL1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 25、26及27之序列；

該CDRL1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 28、29及30之序列；或

該、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 31、32及33之序列。

63. 如實施例55至62中任一例之抗體或片段，其中該抗體或片段包含：

包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11或12的VH區；及

包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13、14、15、16或17的VL區。

64. 如實施例63之抗體或片段，其中該VH區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 11。

65. 如實施例63之抗體或片段，其中該VH區包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12。

66. 如實施例55至65中任一例之抗體或片段，其中該抗體專一性結合至人類CD19。

67. 如實施例66之抗體或片段，其中該抗體專一性結合至與選自由FMC63及SJ25C1組成之群之參考抗CD19抗體所專一性結合之抗原決定基相同或重疊的CD19抗原決定基。

68. 如實施例66之抗體或片段，其中該抗體與選自由FMC63及SJ25C1組成之群的抗CD19抗體競爭結合至CD19。

69. 一種專一性結合至與參考抗體所專一性結合之抗原決定基相同或重疊之CD19抗原決定基的人類抗體片段，其為如實施例55至68中任一例之抗體或其片段或為選自由FMC63及SJ25C1組成之群的抗

CD19抗體，該人類抗體片段包含與存在於FMC63及SJ25C1中之CDR不同的重鏈及輕鏈CDR。

70. 一種專一性結合至CD19且與參考抗體競爭結合至CD19的人類抗體片段，其為如實施例55至68中任一例之抗體或片段或為選自由FMC63及SJ25C1組成之群的抗CD19抗體，該抗體片段包含與存在於FMC63及SJ25C1中之CDR不同的重鏈及輕鏈CDR。

71. 如實施例68或70之抗體或片段，其與參考抗體競爭結合至CD19的程度至少與參考抗體與其自身競爭結合至CD19的程度相同，或競爭程度比參考抗體之競爭程度低不超過1.5倍或2倍。

72. 如實施例55至71中任一例之抗體或片段，其中該抗體對CD19的結合親和力至少與選自由FMC63及SJ25C1組成之群之參考抗體對CD19的結合親和力同樣高或實質上同樣高。

73. 如實施例72之抗體或片段，其結合親和力的 EC_{50} 與參考抗體之 EC_{50} 約相同或低於參考抗體之 EC_{50} 或比參考抗體之 EC_{50} 大不超過約1.5倍或不超過約2倍、大不超過3倍及/或大不超過10倍。

74. 如實施例55至73中任一例之抗體或片段，其中該抗體為人類抗體。

75. 如實施例55至74中任一例之抗體或片段，其中該抗體為重組抗體。

76. 如實施例55至75中任一例之抗體或片段，其為單株抗體或片段。

77. 如實施例55至76中任一例之抗體或片段，其為單鏈片段。

78. 如實施例55至77中任一例之抗體或片段，其為包含經柔性免疫球蛋白連接子連接之抗體可變區的片段。

79. 如實施例77或78之抗體或片段，其中該片段包含scFv。

80. 如實施例79之抗體或片段，其中該scFv包含含有SEQ ID NO:

34所述之序列的连接子。

81. 如實施例80之抗體或片段，其中該scFv包含SEQ ID NO: 2、4、6、8或10中所述之胺基酸序列。

82. 如實施例55至81中任一例之抗體或片段，其進一步包含免疫球蛋白恆定區之至少一部分。

83. 如實施例82之抗體或片段，其中免疫球蛋白恆定區之該至少一部分包含Fc區。

84. 如實施例83之抗體或片段，其中該Fc區為人類IgG之Fc區。

85. 如實施例55至84中任一例之抗體或片段，其中CD19為人類CD19。

86. 一種嵌合抗原受體，其包含含有如實施例55至85中任一例之抗體或片段的細胞外部分及細胞內信號傳導域。

87. 如實施例86之嵌合抗原受體，其中該抗體或片段包含scFv且該細胞內信號傳導域包含ITAM。

88. 如實施例87之嵌合抗原受體，其中該細胞內信號傳導域包含CD3- ξ (CD3 ζ)鏈之 ξ 鏈的信號傳導域。

89. 如實施例86至88中任一例之嵌合抗原受體，其進一步包含連接該胞外域及該細胞內信號傳導域的跨膜域。

90. 如實施例89之嵌合抗原受體，其中該跨膜域包含CD28之跨膜部分。

91. 如實施例86至90中任一例之嵌合抗原受體，其進一步包含T細胞共刺激分子之細胞內信號傳導域。

92. 如實施例91之嵌合抗原受體，其中該T細胞共刺激分子係選自由CD28及41BB組成之群。

93. 一種經工程改造之細胞，其表現如實施例86至92中任一例之嵌合抗原受體。

94. 如實施例93之經工程改造之細胞，其為T細胞。

95. 一種治療方法，包含將如實施例93或94之細胞投與患有與CD19相關之疾病或病症的個體。

96. 一種治療方法，包含將如實施例55至85中任一例之抗體投與患有與CD19相關之疾病或病症的個體。

97. 如實施例95或96所述之方法，其中該疾病或病症為B細胞惡性疾病。

98. 如實施例97所述之方法，其中該B細胞惡性疾病係選自由以下組成之群：B細胞慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)、前淋巴細胞性白血病、毛細胞白血病、常見急性淋巴細胞性白血病、無標記急性淋巴母細胞性白血病、非霍奇金氏淋巴瘤、瀰漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCLs)、多發性骨髓瘤、濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、惰性B細胞淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤。

99. 一種核酸，其編碼如實施例55至85中任一例之抗體或如實施例86至92中任一例之嵌合抗原受體。

100. 一種組合物，其包含如實施例55至85中任一例之抗體、如實施例86至92中任一例之CAR，或如實施例93或94之細胞。

101. 一種治療方法，包含將如實施例100之組合物投與患有與CD19相關之疾病或病症的個體。

實例

以下實施例僅為說明之目的而包括在內且不意欲限制本發明之範疇。

實例1：產生及評估抗CD19抗體

產生且評估例示性抗CD19抗體，此等抗體專一性結合至表現CD19之細胞，結合特性類似於鼠類抗CD19參考抗體且/或與鼠類抗

CD19參考抗體競爭結合。

1A. 庫選擇、抗體產生

經由對無細胞系統中所呈現之dsDNA編碼人類初始抗體庫執行的一系列選擇步驟來產生例示性抗CD19抗體(scFvs)。經由三輪連續選擇來選出結合至活細胞的V_H庫成員，富集專一性結合至經穩定轉染之表現CD19之HEK293細胞(而非親本HEK293細胞及/或不表現CD19的CHOK1細胞)的成員。每輪選擇結束時，如下產生三個各別溶離池：(a)表面剝離以自靶細胞回收結合子；(b)使用鼠類抗CD19抗體FMC63 IgG進行競爭性溶離；及(c)使用另一種鼠類抗CD19抗體SJ25C1進行競爭性溶離(執行(b)及(c)以富集與FMC63及/或SJ25C1競爭結合至CD19的結合子)。

3輪選擇結束時，接著藉由以V_H-(G4S)₃-V_L形式改組此等各別池之V_H成員及初始人類V_L庫而將此等富集的V_H庫轉換成scFv庫。對所得scFv庫進行第四輪選擇，富集專一性結合至表現CD19之HEK293細胞而非親本細胞的成員，隨後進行表面剝離。

進行第五輪選擇以進一步富集結合至表現CD19之其他細胞(CD19/K562)的成員。選擇之後，使用(a)表面剝離、(b) FMC63競爭性溶離或(c) SJ25C1競爭性溶離來產生各別溶離池。在第六輪選擇中，此等三個池個別地如下進一步富集：負向選擇不結合親本細胞(HEK293，兩次，K562)的成員，隨後正向選擇結合表現CD19之HEK293細胞的成員且用識別HEK293細胞上所表現之CD19上的C末端標記的抗Myc抗體進行免疫沈澱。

在一項研究中，使用測定胺基酸序列的正向及反向引子對三個R6 scFv所得池中之每一者的四十八(48)個純系進行測序。130個所測scFv序列顯示全長讀數。在該等序列中觀測到彙聚。在130個scFv序列中鑑別十八(18)個複本(代表130個純系中之四十六(46)個)。在此研

究中，在兩個不同池(一個池為10個複本且另一個池為4個複本)中，十四(14)次偵測出含有CDR 1-3及FR 1-3的一個V_H部分序列，其與5個不同V_L成對。不同池中的其他複本鑑別2次至5次；其他為單複本序列。在另一研究中，鑑別其他CD19結合純系且測序。其中出現相同V_H部分，及不同V_L序列。

1B. 專一性結合至表現CD19的細胞

相較於不表現CD19的細胞，所測序純系對表現CD19之HEK293細胞及對照HEK293細胞的結合係使用活體外轉譯之粗細胞溶胞物或使用細菌產生的上清液、藉由流式細胞術評估。簡言之，將各種純系之RNA歸一化且活體外轉譯為具有C末端FLAG標記的粗scFv。分析中使用表現CD19之HEK293及對照(經模擬物轉染) HEK293細胞。個別scFvs對CD19及對照細胞的結合係使用二次抗FLAG-Alexa647結合物量測。或者，將scFv結合池選殖入大腸桿菌表現載體中且以經HIS標記之scFvs產生，其在流式細胞學分析中用抗HIS-Alexa647結合物偵測。鼠類抗CD19抗體(FMC63 scFv及FMC63 IgG)用作陽性對照物；亦使用對照scFv。藉由流式細胞術評估平均螢光強度(MFI)。結果顯示於圖1A及圖1B中，表明所鑑別之純系結合至表現CD19之細胞。所評估之純系為scFvs，包括純系5、17、18 (使用活體外轉譯之溶胞物鑑別)，純系76 (使用細菌上清液鑑別)；相較於CD19陰性細胞，其對表現CD19之細胞顯示明確的結合偏好。

如圖1A及圖1B中所示，對於一些純系而言，所偵測之結合至表現CD19之細胞的程度(在此情況下，如藉由平均螢光強度所量測)相較於不表現CD19之細胞的變化倍數與針對陽性對照參考抗體鼠類抗CD19抗體FMC63 scFv及/或FMC63 IgG所觀測到的變化倍數約同樣大、至少同樣大或更大。在一些情況下，所觀測之結合至表現CD19之細胞的總程度與針對陽性對照參考抗體中之一或多者所觀測的總程

度約同樣大、至少同樣大或更大。

進一步分析四(4)個scFv純系，相較於不表現CD19之細胞，其對表現CD19之細胞顯示明確的結合偏好(「純系18」、「純系17」、「純系5」及「純系76」)。測序已揭露該等純系在其V_H序列內具有共同的CDR序列，其具有不同的V_L序列及不同CDR-Ls。對應於四個純系之序列(包括例示性scFv、V_H、V_L及CDR (Kabat)胺基酸序列及編碼核苷酸scFv序列)的序列標識符列舉於表2中。純系18之生殖系變異體(稱為「純系18B」)係藉由Kabat位置89之半胱胺酸(C)經絲胺酸(S)取代來產生；此純系之序列亦列舉於表2中。各純系具有V_H3鏈序列。純系18包括來源於Vλ2序列的輕鏈構架(純系18B具有Vλ2生殖系構架序列)；純系17及純系76具有Vλ1序列，且純系5包括Vλ3序列。純系18及純系17來源於多種分支及庫，包括V_H-V_L改組及scFv。純系76來源於V_H-V_L SJ25C1競爭性溶離(第6輪)；純系5來源於V_H-V_L FMC63競爭性溶離(第6輪)。

表2：例示性純系之序列(SEQ ID NO.)					
純系#	重鏈可變(VH)區 (胺基酸)	輕鏈可變(VL)區 (胺基酸)	ScFv序列 (胺基酸，核苷酸)	CDR-H (1, 2, 3) (Kabat) (胺基酸)	CDR-L (1, 2, 3) (Kabat) (胺基酸)
5	12	17	10	18, 19, 20	31, 32, 33
17	12	15	6	18, 19, 20	25, 26, 27
18	11	13	2	18, 19, 20	21, 22, 23
18B	11	14	4	18, 19, 20	21, 22, 24
76	11	16	8	18, 19, 20	28, 29, 30

1C. 結合親和力、與參考抗體競爭

藉由單步純化法純化純系5、17、18、18B及76且經由SDS凝膠法評估純化。來自例示性研究的凝膠顯示於圖2中(泳道1及2=純系5，非還原型、還原型；泳道3及4=純系17，非還原型、還原型；泳道5及6=純系18，非還原型及還原型；泳道7及8=純系76，非還原型及還原型)。在此研究中，純系5、17、18及76之等電點經量測分別為5.36、

5.32、7.11及5.32。

使用BioTad CFX96儀器進行熔融溫度(T_m)量測，以分析在溫度遞增情況下的寶石橙蛋白質(sypro orange protein)併入，揭露 T_m 值與針對參考抗體FMC63 scFv所觀測到的 T_m 值類似。結果呈現於表3中。

表3： T_m 之評估	
純系，條件	T_m (°C)
5, 咪唑	53
5, pH 6	61
5, pH 7	57
5, pH 8	57
17	51
18	59
18B	59
FMC63 scFv	56

滴定純系，且藉由流式細胞術評估其對表現CD19之K562細胞的結合親和力(EC_{50})，其中參考鼠類CD19抗體FMC63 scFv用作陽性對照物。三次各別分析的結果(各包括純系18之其他結合親和力及其比較情況)顯示於圖3A至3C中。

在分析結果顯示於圖3A中的分析中，藉由研究所鑑別之純系18、純系17、另一純系(稱為純系192；參見表6中之序列)及參考抗體(FMC63 scFv)的 EC_{50} 值經量測分別為3.79 nM、14.86 nM、12.80 nM及7.37 nM。在分析結果顯示於圖3B中的分析中，純系18、純系18B及純系76的 EC_{50} 值經量測分別為7.1 nM及9.3 nM及7.9 nM。在分析結果顯示於圖3C中的分析中，純系18及純系76的 EC_{50} 值經量測分別為4.1 nM及8.8 nM。

因此，所分析的純系各自專一性結合至表現CD19之細胞，此結合的親和力類似於參考抗體的親和力，例如 EC_{50} 與參考抗體之 EC_{50} 約相同或低於參考抗體之 EC_{50} ，或比參考抗體之 EC_{50} 大不超過約1.5倍或不超過約2倍或不超過約3倍。

在另一分析中，藉由相同分析來評估純系18、5、17、所鑑別之



其他純系(161、170、1 (參見表6中之序列資訊))，及陽性對照參考抗體FMC63 scFv (一個盤)及純系18、所鑑別之其他純系(177、184、192、198)，及陽性對照參考抗體FMC63 scFv (另一個盤)。結果呈現於圖4中。針對兩個盤所觀測到的EC₅₀值呈現於表4A及表4B中。如所示，觀測到純系具有與參考抗體類似的結合親和力。

表4A					
	純系18	純系5	純系17	其他例示性純系 (純系161, 170, 1)	FMC63 scFv
EC ₅₀ (nM)	4.79	15.84	8.32	52.26, 96.68, 213.80	5.06

表4B			
	純系18	其他例示性純系 (純系177、184、192、198)	FMC63 scFv
EC ₅₀ (nM)	3.11	53.33, 113.90, 12.02, 13.21	5.83

進行競爭結合分析以評估各種抗體與表現CD19之細胞的競爭結合。在一個分析中，評估0.5 nM (約EC₅₀)經FITC標記之SJ25C1在各種濃度之未結合競爭者FMC63 IgG或對照IgG存在或不存在下對拉莫斯細胞(Ramos cells)的結合；藉由流式細胞術(平均螢光強度)評估結合。結果顯示於圖5A中，表明在此研究中，FMC63 IgG與SJ25C1 IgG1競爭結合至CD19，表明SJ25C1結合的抗原決定基與FMC63結合的抗原決定基重疊，例如共同的CD19抗原決定基。在另一分析中，將表現CD19的細胞與經標記之FMC63 IgG一起在各種濃度的純系18 scFv、FMC63 scFv (陽性對照物)及對照scFv (陰性對照物)存在(或不存在)下培育。結果顯示於圖5B中。如所示，觀測到純系18 scFv及FMC63 scFv (而非陰性對照物scFv)均以類似的IC₅₀值(分別為24.0 nM及19.8 nM)與FMC63 IgG競爭結合至表現CD19之細胞，表明純系18結合至與FMC63所識別之抗原決定基重疊的CD19抗原決定基，且與參考抗體競爭結合的程度類似。

在另一分析中，將10 nM (EC₅₀)經Alexa647標記之FMC63 scFv與

表現 CD19 之 K562 細胞一起在不同濃度之純系 18 scFv、純系 18B scFv、純系 17 scFv、純系 76 scFv、參考抗體(FMC63 scFv)及陰性對照抗體(R12)之存在或不存在下培育。結果呈現於圖 6 中。該等純系及參考抗體(而非陰性對照抗體)顯示與 FMC63 scFv 競爭結合至 CD19，且參考抗體與其自身的競爭類似於針對所測試純系所觀測到的競爭。

總體而言，在多次研究中，觀測到各種純系的以下 EC₅₀ (結合親和力)及 IC₅₀ (競爭)值，如表 5 中所列。如所示，所鑑別之人類 CD19 抗體為具有類似程度的針對 CD19 之結合親和力及類似程度的針對鼠類抗 CD19 之競爭性抑制(相較於參考抗體自身)的彼等物，例如 EC₅₀ 及 / 或 IC₅₀ 約相同、小於或大不超過 1.5 倍、2 倍或 3 倍。

表 5：來自例示性結合研究之資料的概述		
純系/抗體	EC ₅₀ (表現 CD19 之細胞) (nM)	IC ₅₀ (nM) (與 FMC63 競爭結合)
純系 18	4.1 ± .57 (n=7)	20.1 ± 9.8 (n=3)
純系 18B	5.4 ± 1.3 (n=5)	28 (n=1)
純系 76	8.04 ± 0.3	18.2 ± 1.5 (n=2)
純系 17	11.7 ± 1.9	35.4 ± 3.9 (n=2)
純系 5	15.8 (n=1)	50 (n=1)
FMC63	6.1 ± 1.2 (n=6)	20.5 ± 6.7 (n=3)

1D. 尺寸排阻層析

經由尺寸排阻層析來評估純系 18B 的生物物理學特性。校準 HiLoad 16/600 Superdex 200 管柱且注射 Bio-Rad 凝膠過濾標準 150-1901 kDa 蛋白質，且以 1.5 mL/min 收集溶離份以產生參考物。將 770 µg 純系 18B scFv 注射至管柱中且在相同條件下收集溶離份。結果顯示於圖 7 中(圖 7A=標準物；圖 7B=純系 18B)。純系 18B scFv 的結果展現單一峰值，所觀測到的大尺寸聚集物最少。

實例 2：產生及評估其他抗 CD19 抗體

產生及評估與鼠類抗 CD19 參考抗體具有類似結合特性(及/或競爭結合)的其他例示性抗 CD19 抗體(scFv 片段)。



2A. 庫選擇、抗體產生

其他例示性抗CD19 scFvs係藉由兩種不同選擇方法產生，各包括針對無細胞系統中所呈現之經dsDNA編碼人類抗體庫所進行的一系列選擇步驟。

在一種方法(稱為「純系18 CDR3移植」)中，將實例1中所鑑別之純系中存在的重鏈CDR3 (CDR-H3)序列(SEQ ID NO: 20，DQGYHYYDSAEHAFDI)移植至人類初始V_H庫構架中。所得CDR3移植V_H庫成員用初始人類V_L庫成員改組以產生呈V_H-(G4S)3-V_L形式的scFv庫。對所得scFv庫進行三輪選擇以富集專一性結合至表現CD19之HEK293細胞而非親本細胞的成員，隨後在第1輪(R1)中進行表面剝離，在第2輪(R2)中進行免疫沈澱及解離速率測定。

在另一方法(稱為「FMC63導引式選擇」)中，如下分別產生兩種初始scFv庫：(a)用FMC63之V_L區改組初始V_H庫成員及(b)用FMC63之V_H區改組初始V_L庫成員。兩輪及三輪選擇之後，在親本FMC63 V_H或V_L導引下分別利用(a)及(b)富集結合CD19的庫成員。藉由對CD19/HEK293細胞進行表面剝離(R1)及自CD19/K562細胞進行FMC63溶離(R2及R3)來溶離出結合分子。藉由用(b)中之選擇所得的V_L序列改組(a)中之選擇所得的V_H序列來產生第三scFv庫。另外進行三輪選擇：對CD19/HEK293細胞進行表面剝離(R1)，隨後對CD19/K562細胞進行FMC63溶離(R2)，及對CD19/HEK293細胞進行免疫沈澱(R3)。使用細菌產生的上清液，藉由流式細胞術證實所選scFv純系對表現CD19之細胞的結合。將所選scFv池選殖至大腸桿菌表現載體中且以經HIS標記的scFvs形式產生。使用抗HIS-Alexa647結合物，藉由流式細胞術偵測個別純系對經CD19轉染之HEK293細胞的結合。使用純系18或純系18B作為陽性對照物，且使有各種陰性對照物。結果顯示於圖8A至C (MFI=平均螢光強度)中。

圖8D中所示的結果中證實CD19專一性結合有例示性二十三(23)個成功結果(圖8A至C中用星號標記，代表4個經由CDR3移植方法鑑別的成功結果及經由FMC63導引式選擇鑑別的19個成功結果)。如實例1中所述，藉由流式細胞術評估活體外轉譯之經FLAG標記之scFvs對表現CD19之K562細胞的結合(相較於對照(經轉染)之K562細胞)。如所示，該等純系專一性結合至表現CD19的細胞。

進一步評估實例1及2中藉由選擇方法所產生的此等及其他CD19專一性scFv純系。測序展現若干CD19專一性結合抗體(scFvs)具有各種不同輕鏈序列且具有亦存在於實例1中所述之scFvs中的共同CDR-H3序列(SEQ ID NO: 20)。表6中列有對應於其他CD19結合scFvs之各種序列的序列標識符，包括scFv、V_H、V_L及CDR (Kabat)胺基酸序列(及編碼scFv的核苷酸序列)。CD19專一性scFv純系為具有若干不同輕鏈可變序列及CDR序列的彼等物，其中一些具有以SEQ ID NO: 11存在的CDR-H1、CDR-H2及/或CDR-H3；具有SEQ ID NO: 18、19及/或20之序列的CDR-H1、CDR-H2及/或CDR-H3；及/或具有18、72及20之序列的CDR-H1、CDR-H2及/或CDR-H3。表6中所列之純系各自來源於人類V_H3構架(指示該等純系所來源的κ及λ基因V區段)。

表6：例示性純系之序列(SEQ ID NO.)

純系#	重鏈可變(V _H) 區 (胺基酸)	輕鏈可變(V _L) 區 (胺基酸)	ScFv序列 (胺基酸，核 苷酸)	CDR-H (1, 2, 3) (Kabat) (胺基酸)	CDR-L (1, 2, 3) (Kabat) (胺基酸)	輕鏈構 架來源 於
488	63	71	45, 44	18, 72, 20	80, 100, 109	Vκ3
1304	62	68	47, 46	18, 72, 20	77, 97, 106	Vκ1
285	11	65	49, 48	18, 19, 20	74, 94, 103	Vλ2
192B	60	64	51, 50	18, 19, 20	73, 93, 101	Vλ2
328	61	66	53, 52	18, 19, 20	75, 95, 104	Vλ2
227	63	70	55, 54	18, 72, 20	79, 99, 108	Vκ1



1300	62	69	57, 56	18, 72, 20	78, 98, 107	Vκ1
1	12	67	59, 58	18, 19, 20	76, 96, 105	Vλ1
192	12	91	87, 86	18, 19, 20	73, 93, 102	Vλ2
241	63	90	89, 88	18, 72, 20	77, 97, 106	Vκ1

2B. 純化及評估

上述純系(包括表6中所列及/或實例1中所述之純系)藉由單步純化法純化且經由SDS凝膠法評估純化。結果呈現於圖9中(泳道1=MW標記物；泳道2、9及10=純系5 (1530、2880、1130 μg/mL)；泳道3=純系18B (660 μg/mL)；泳道4、11、12及13=純系17 (300、1060、180、1440 μg/mL)；泳道5=純系192B (1580 μg/mL)；泳道6及14=純系76 (1340、3220 μg/mL)；泳道7=純系835 (470 μg/mL)；泳道8=純系488 (340 μg/mL))。如實例1中所述進行熔融溫度(T_m)量測，揭露T_m值與在實例1中針對參考抗體及純系所觀測到的T_m值類似(表7)。

表7：T _m 之評估	
純系	T _m (°C)
5	58
18B	57
17	52
192B	64
76	51/59
488	63
285	68
227	60

滴定各種純系且藉由流式細胞術評估其對各種表現CD19之細胞的結合親和力(EC50)。FMC63 scFv參考抗體用作陽性對照物。評估各種CD19專一性scFv純系之結合親和力的五個各別分析之結果顯示於圖10A至10E中。如所示，選擇產生具有各種結合親和力及一系列可飽和結合活性的若干CD19專一性scFv純系。

如實例1中所述進行競爭結合分析以評估各種所鑑別抗體(scFv純系)與鼠類參考抗體競爭結合(結合至表現CD19之細胞)的能力。在一

個實例中，將表現CD19之細胞與10 nM經標記之FMC63 scFv一起在各種濃度之指定scFv純系存在下培育，該等純系具有不同輕鏈序列且具有共同的重鏈CDR3(或FMC63 scFv(陽性對照))。圖11中所示的結果證明該等純系以不同的IC₅₀值、與FMC63 scFv競爭結合至表現CD19的細胞。進行類似研究以評估在實例1及2中所述之篩選方法中所鑑別之其他純系的特性。各種CD19結合抗體(scFvs)的EC₅₀ (結合親和力)及IC₅₀ (競爭)值列舉於表8中。純系79、835、184、505、506及305的CDR-L3序列分別如SEQ ID NO: 116、117、118、119、120及121所述。

表8：各種結合及競爭分析的結果

純系/抗體	EC ₅₀ (表現CD19的細胞) (nM)	IC ₅₀ (nM) (與FMC63競爭結合)
純系18B	4.9 ± 0.8 (n=7)	32.9 ± 3.2 (n=3)
純系17	11.6 ± 1.1 (n=5)	35.4 ± 3.9 (n=2)
純系76	7.0 ± 1.4 (n=5)	18.2 ± 1.5 (n=2)
純系5	15.8 (n=1)	50 (n=1)
純系192B	7.7 ± 1.4 (n=3)	15.7 ± 2.5 (n=3)
純系488	2.9 ± 0.4 (n=4)	6.1 ± 0.7 (n=6)
純系79	65.7 (n=1)	102.5 (n=1)
純系835	71.8 (n=1)	>200
純系184	113.9 (n=1)	N/A
純系505	138.9 (n=1)	N/A
純系506	179.3 (n=1)	N/A
純系1	213.8 (n=1)	N/A
純系241	5.2 ± 0.1 (n=2)	14.6 ± 2.7 (n=3)
1300	1.3 ± 0.1 (n=3)	3.9 ± 0.5 (n=2)
227	31.8 ± 5.3 (n=3)	56.1 ± 3.9 (n=2)
285	2.5 ± 0.5 (n=4)	9.4 ± 1.4 (n=3)
305	32.2 ± 6.9 (n=2)	> 500 (n=2)
328	10.9 ± 4.6 (n=4)	32.9 (n=1)
FMC63	6.0 ± 0.8 (n=9)	15.0 ± 2.8 (n=10)

在所鑑別的人類CD19抗體(scFv片段)中，多者證明對CD19的結合親和力程度(例如類似或較低EC₅₀值)類似於或大於鼠類抗CD19參考抗體FMC63。多者亦證明與鼠類抗CD19參考抗體競爭結合CD19的程度類似於或大於參考抗體與其自身競爭的能力(例如類似或較低IC₅₀值)。

舉例而言，觀測到純系的EC₅₀值小於參考抗體EC₅₀值、與參考抗

體EC₅₀值約相同，或比參考抗體EC₅₀值大或約1.5倍、2倍或3倍。同樣，觀測到若干所鑑別之抗CD19抗體(scFvs)與經標記之FMC63 scFv競爭結合至表現CD19之細胞，其IC₅₀值低於針對FMC63 scFv所觀測之IC₅₀值，與針對FMC63所觀測之IC₅₀值約相同，或高不超過1.5倍或2倍或3倍(例如競爭程度比參考抗體之競爭程度低不超過1.5倍或2倍或3倍)。結果指示此等研究鑑別出多種抗體結合的CD19抗原決定基與FMC63所專一性結合的抗原決定基重疊。

實例3：產生針對CD19的嵌合抗原受體(CARs)及表現此類CARs之細胞的工程改造

產生各種例示性嵌合抗原受體(CARs)，其中抗原結合區含有如實例1中所述的人類抗CD19 scFvs。特定言之，產生編碼CARs的核酸分子，該等CARs具有來源於以下純系且具有指定序列標識符中所述之胺基酸序列的scFvs (VH-VL形式)：純系18 (SEQ ID NO: 2)、純系18B (SEQ ID NO: 4)、純系17 (SEQ ID NO: 6)、純系76 (SEQ ID NO: 8)及純系5 (SEQ ID NO: 10)。另外，針對各純系亦產生編碼具有相同VH及VL序列、但以逆向取向(VL-VH)存在之CAR的構築體。含有來源於FMC63之鼠類抗CD19 scFv的CAR(VH-VL取向)用作對照。各CAR進一步含有Ig源間隔子；人類CD28源跨膜域；人類4-1BB源細胞內信號傳導域；及人類CD3 ξ 源信號傳導域(一種截短之EGFR (EGFRt)序列)，其適用作轉導標記物，藉由自裂解T2A序列而與CAR序列分離。

產生表現各種CARs的初始人類T細胞群。將編碼各CAR的核酸分子個別地選殖至慢病毒載體中，其用於轉導CD4⁺及CD8⁺ T細胞群，該等T細胞群自獲自健康供者的人類PBMC樣品分離(基本上如Yam等人(2002) Mol. Ther. 5:479；WO2015/095895中所述)。

轉導及擴增之後，使用抗EGFR抗體染色、藉由流式細胞術驗證

EGFRt轉導標記物在CD4+及CD8+ T細胞表面上的表現。圖12A提供各種CARs在CD8+細胞中之表現的代表性結果；對於CD4+細胞觀測到類似結果。使用抗CD247 (CD3 ξ)抗體、藉由西方墨點法證實CAR蛋白質表現(在每種情況下，其偵測到位於約50 kD之色帶，其代表CAR；及位於約18 kDa之色帶，其代表存在於細胞中的內源性CD3 ξ 鏈)(圖12B)。結果證明各種含人類scFv之CAR構築體中之每一者(包括VH-VL及VL-VH取向)與對照(來源於鼠類FMC63)CAR構築體在初始T細胞群中的轉導程度及CAR蛋白質表現程度類似。在未進行轉導的細胞中未偵測到EGFRt表現。西方墨點法分析結果證實來源於純系76的CAR (呈VH-VL取向)係以不同的糖基化形式存在。

如圖12A中所示，如下成功地在經轉導之細胞中富集T細胞群(100% EGFRt+或接近100% EGFRt+，如流式細胞術所證實)：用抗EGFR抗體染色，經流式細胞儀分選，及在來源於CD19+ B淋巴母細胞細胞株(B-LCL)的經輻射(8,000拉德)細胞存在下進行刺激，基本上如Yam等人(2002) Mol. Ther. 5:479；WO2015/095895所述。

實例4：評估活體外表表現抗CD19嵌合抗原受體(CAR)之經工程改造之T細胞的效應子功能

如實例3中所述產生表現含有人類抗CD19 scFvs之各種CARs的經基因工程改造之人類T細胞(CD8+或CD4+)，與表現CD19之細胞共培養之後，根據各種反應加以評估。

A. 溶胞活性

表現CD19之靶細胞分別與表現各種CARs的CD8+ T細胞一起及經單獨EGFRt轉導之細胞(陰性對照物)一起培育。培育之後，監測靶細胞之溶解。特定言之，對經CD19轉導之K562細胞(K562/CD19)、Raji (CD19+ B細胞淋巴瘤株)細胞及未經轉導之K562對照細胞(陰性對照物)(圖13A)及初始人類慢性淋巴細胞性白血病細胞(CLL；圖13B)進行

測試。

靶細胞(未經K562/CD19 Raji轉導之K562對照細胞或CLL)經⁵¹Cr標記隔夜。洗滌經標記之細胞且一式三份地與效應子T細胞(表現CAR之陰性對照CD8+細胞)一起以30:1之效應子:標靶(E:T)比率培育。為了量測自發性溶胞，將靶細胞與等體積、但無效應子細胞之培養基一起培育且在靶細胞與清潔劑一起培育以完全溶解靶細胞之後測定最大溶胞。培育4小時之後，收集上清液用於γ計數。實驗條件下的特定溶胞百分比如下計算： $[(\text{實驗釋放} - \text{自發性釋放}) / (\text{最大釋放} - \text{自發性釋放})] \times 100$ 。

結果闡述於圖13A及13B中。如圖13A中所示，表現各種含有人類抗CD19 scFv之CARs的經工程改造之CD8+ T細胞展現針對CD19+細胞的抗原專一性溶胞活性，此活性的程度與表現含有鼠類抗CD19 (FMC63) scFv之CARs的細胞類似。此細胞毒性活性針對不表現CD19之對照K562細胞時則未觀測到。針對表現具有VH-VL取向(HL)之人類scFvs之CARs的細胞所觀測到的溶胞活性程度經觀測類似於或大於針對表現含有鼠類scFv之CAR的細胞所觀測到的溶胞活性程度。針對表現具有VH-VL (HL)取向之指定人類scFv之CAR的細胞所觀測到的溶胞活性程度通常大於針對表現具有呈逆向VL-VH取向(LH)之相應scFv之CAR的細胞所觀測到的溶胞活性程度。如圖13B中所示，結果亦證明亦觀測到表現各種含有人類抗CD19 scFv之CARs (VH-VL取向)的經工程改造之CD8+細胞針對初始人類CLL細胞的抗原專一性溶胞活性。

B. 細胞激素釋放

表現CAR之細胞與表現抗原之對照靶細胞一起培育之後，評估細胞激素釋放。經轉導之CD8+及CD4+ T細胞一式三份地與靶細胞(K562、K562/CD19、Raji)一起以30:1之效應子:標靶(E:T)比率共培

養。經轉導之CD8+細胞與初始人類慢性淋巴細胞性白血病細胞(CLL)共培養之後，亦類似地測試到細胞激素分泌。將共培養之細胞培育約24小時，接著收集上清液以便使用多工細胞激素免疫分析(Luminex®)量測IFN- γ (CD8+細胞)或IFN- γ 、TNF- α 或IL-2 (CD4+細胞)。

CD8+細胞的結果闡述於圖14A及14B中。觀測到表現各種含有人類抗CD19 scFv之CARs的經工程改造之CD8+ T細胞在與CD19+細胞一起培育之後以抗原專一性方式分泌IFN- γ ，此分泌的程度與針對表現含有鼠類抗CD19 (FMC63)scFv之CARs的細胞所觀測到的分泌程度類似。不表現CD19之對照K562細胞培育之後，未觀測到細胞激素分泌。針對表現具有呈VH-VL取向之所測試人類抗CD19 scFvs之CARs的細胞所觀測到的細胞激素分泌水準類似於且在一些情況下大於針對表現含有鼠類抗CD19 scFv之CAR的細胞所觀測到的細胞激素分泌水準。針對表現具有呈VH-VL取向之指定人類scFv之CAR的細胞所觀測到的IFN γ 分泌程度通常大於針對表現具有呈逆向(VL-VH)取向之相應scFv之CAR的細胞所觀測到的IFN γ 分泌程度。如圖14B中所示，表現各種含有人類抗CD19 scFv之CARs (VH-VL取向)的經工程改造之CD8+ T細胞與CLL細胞共培養之後，亦觀測到其存在抗原專一性細胞激素分泌。

表現CD4+ CAR之T細胞的結果闡述於圖15中。觀測到表現各種含有人類抗CD19 scFv之CARs (VH-VL取向)的經工程改造之CD4+ T細胞在與CD19+靶細胞一起培育之後以抗原專一性方式分泌細胞激素，此分泌的水準類似於且通常大於針對表現含有鼠類scFv (FMC63)之CAR的細胞所觀測到的分泌水準。與CD19陰性對照細胞一起培育之後，未觀測到細胞激素分泌。

C. T細胞增殖

與表現CD19之靶細胞一起培育之後的各種表現CAR之T細胞之增

殖係藉由流式細胞術評估。表現CD8⁺或CD4⁺ CAR之T細胞經0.2 μ M 羧基螢光素丁二醯亞胺基(CFSE)標記。洗滌細胞且一式三份地與靶細胞(K562、K562/CD19或Raji)一起在無外源性細胞激素之含血清培養基中培育72小時。活T細胞之分裂係藉由CFSE稀釋來指示，如藉由流式細胞術所評估。

表現CD8⁺ CAR之T細胞及表現CD4⁺ CAR之T細胞的結果分別結果闡述於圖16A及16B中。如圖16A中所示，表現各種所測試之含有人類抗CD19 scFv之CAR構築體的CD8⁺ T細胞在與表現CD19之K562/CD19或Raji靶細胞一起共培養之後增殖，但與K562對照細胞一起共培養之後通常不增殖。針對表現具有所測試人類抗CD19 scFv之CARs之T細胞所觀測到的增殖程度類似於針對表現含有鼠類抗CD19 scFv之CAR之細胞所觀測到的增殖程度。通常觀測到表現具有呈VH-VL取向之指定人類scFv之CAR的細胞之增殖程度大於針對表現具有呈逆向(VL-VH)取向之相應scFv之CAR的細胞所觀測到的增殖程度。

在CD4⁺細胞中亦觀測到表現CAR之T細胞的抗原專一性增殖。如圖16B中所示，表現各種所測試之含有人類抗CD19 scFv之CAR構築體的CD4⁺ T細胞在與表現CD19之K562/CD19或Raji靶細胞共培養之後增殖。針對表現具有所測試人類抗CD19 scFv之CARs之CD4⁺ T細胞所觀測到的增殖程度類似於針對表現含有鼠類抗CD19 scFv之CAR之細胞所觀測到的增殖程度。

實例5：表現CAR之T細胞在活體內授受性轉移之後的抗腫瘤作用

細胞授受性轉移至患者源異種移植(PDX)腫瘤模型動物個體之後，藉由監測腫瘤來評估表現CAR之經工程改造之初始人類T細胞的抗腫瘤作用。六至八週齡雌性NOD.Cg.Prkdc^{scid}IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG)小鼠靜脈內(i.v.)注射 0.5×10^6 個經螢火蟲螢光素酶(Raji-ffluc)轉染的Raji淋巴瘤腫瘤細胞。允許腫瘤移植發生6天且使用生物發光成像進

行檢驗。第7天，小鼠接受次佳劑量(在此研究中為 1×10^6 個表現CAR之T細胞)之實例3中所述各種經工程改造之初始人類T細胞(單獨CD8+細胞(圖17A)或CD4+細胞與CD8+細胞之1:1比率之組合(圖17B))的單一靜脈內(i.v.)注射。作為對照，向小鼠投與經單獨EGFRt轉導的細胞(陰性對照物)。使用次佳劑量以便更好地顯現抗腫瘤作用的差異。

第6、9、13、20、27及34天藉由生物發光成像來監測接受性轉移之表現CAR之細胞的抗腫瘤活性。對於生物發光成像而言，小鼠接受再懸浮於PBS中之螢光素受質(CaliperLife Sciences, Hopkinton, MA)(15 μg /g體重)的腹膜內(i.p.)注射。將小鼠麻醉且基本上如WO2015/095895中所述成像。測定平均輻射率($\text{p/s/cm}^2/\text{sr}$)。

如圖17A及17B中所示，在對照T細胞(單獨CD8+細胞(圖17A)或經單獨EGFRt轉導之CD4+細胞與CD8+細胞組合(圖17B))授受性轉移之後的研究過程中，對照小鼠中的腫瘤持續生長。相較於對照小鼠，已投與表現各種含有所測試抗CD19 scFv之CARs中之每一者之經工程改造之T細胞之授受性轉移的小鼠經觀測具有較低程度的生物發光信號，表明所治療動物中的腫瘤尺寸隨時間減小及/或腫瘤生長程度降低。一般而言，如圖17A中所示，表現所測試之單獨人類抗CD19 scFv CARs之CD8+ T細胞的授受性轉移引起腫瘤尺寸相對減小，減小的程度至少與表現含有小鼠抗CD19 scFv之CAR的細胞(FMC63)之授受性轉移相同。如圖17B中所示，觀測到表現所測試之人類抗CD19 CARs之CD8+ T細胞與CD4+ T細胞組合的授受性轉移使得腫瘤尺寸隨時間降低。此類表現人類抗CD19 CAR之細胞的授受性轉移之後，觀測到腫瘤尺寸(如藉由生物發光信號所指示)相對低於表現小鼠scFv源CAR之細胞之授受性轉移之後所偵測到的腫瘤尺寸。

本發明的範疇不限於本文所揭示之實施例，該等實施例旨在單一說明本發明之個別態樣，且在功能上等效之任何實施例均在本發明

之範疇內。熟習此項技術者根據前述說明及教示內容將顯而易知除本文所述內容之外的對本發明之組合物及方法的各種潤飾，且希望此等潤飾屬於本發明之範疇內。可實施此類潤飾或其他實施例而不偏離本發明之真實範疇及精神。

序列

SEQ ID NO.	序列	描述
1	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTCC GGCTTTCCTGGACAATCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAACCACCAGTGAT GATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAACTTATGCT TTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCCGGGGTCCCTCATCGCTTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAGAGCGGCCTCCCTGATCATCTCTGGGCTCCAGACTGAGG ATGAGGCTGATTATTTCTGCTGCTCATATGCAGGCCGATACAACCTCTGTCC TTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	純系 18 scFv (nt)
2	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNANKSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGT VVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPRSVSGF PGQSVTISCTGTTSDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSG RAASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL	純系 18 scFv (aa)
3	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTCC GGCTTTCCTGGACAATCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAACCACCAGTGAT GATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAACTTATGCT TTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCCGGGGTCCCTCATCGCTTCTCTGGCTC CAGGTCTGGCAGAGCGGCCTCCCTGATCATCTCTGGGCTCCAGACTGAGG ATGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATATGCAGGCCGATACAACCTCTGTCC TTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	純系 18B scFv (nt)
4	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNANKSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGT VVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPRSVSGF PGQSVTISCTGTTSDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSG RAASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL	純系 18B scFv (aa)
5	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT	純系 17 scFv (nt)

	GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCT GGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTTCTGCACTGGAACCAGCAGTGA CGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACGG CCCCAAACTCCTCATCTATAGTAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTG ACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTG GGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGAC AGCCTGAGTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTC	
6	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSQSALTQPASVSGS PGQSITIFCTGTSSDVGGYNYVSWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSG SKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSVVFGGGTKLTVL	純系 17 scFv (aa)
7	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTC TGCGGCCCCAGGACAGGAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCA ACATTGGGAATAATTATGTATCCTGGTACCAGCAACTCCCAGGAACAGCC CCCAAACCTCCTCATTTATGACAATGATAAGCGACCCTCAGGGATTCTCTGA CCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTGAGCCACCCTGGGCATCACCG GACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATGGC AATCTGAGTGCTGTATTCGGCGGAGGGACCAAGGTGACCGTCCTA	純系 76 scFv (nt)
8	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSQSVLTQPPSVSAA PGQEVTSISGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNDKRPSGIPDRFSGSK SGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDGNLSAVFGGGTKVTVL	純系 76 scFv (aa)
9	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGTCCTATGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCT GTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCA GAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCTGTA CTTGTCATCTATGATAAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATT CTCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTC AGGCGGAAGATGAGGCTGACTACTACTGCAACTCCCGGGACAGCAGTGGT AACAAATTGGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	純系 5 scFv (nt)
10	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSSYELTQDPAVSVA LGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQKPGQAPVLVIYDKNNRPSGIPDRFSGSSS	純系 5 scFv (aa)

	GNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNNWVFGGGTKLTVL	
11	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGT VVT VSS	VH (純系 18、18B 回復突 變、 76、285) (aa)
12	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGT MVT VSS	VH (純 系17、 5、1、 192) (aa)
13	QSALTQPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRP SGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVLFGGGTKLTV L	VL 純系 18 (aa)
14	QSALTQPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRP SGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVLFGGGTKLTV L	VL、純 系18B (aa)
15	QSALTQPASVSGSPGQSITIFCTGTSSDVGGYNYVSWYQQLPGTAPKLLIYSN NQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSVVFGGGT KLTVL	VL、純 系17 (aa)
16	QSVLTQPPSVSAAPGQEV TISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDND KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDGNLSAVFGGGTK VTVL	VL、純 系76 (aa)
17	SYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYDKN NRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNNWVFGGGTK LTVL	VL、純 系5 (aa)
18	DYAMH	CDR-H1 (aa)
19	GISWNSGRIGYADSVKG	CDR-H2 (aa)
20	DQGYHYYDSAEHAFDI	CDR-H3 (aa)
21	TGTTSDDVS	純系 18、18B CDR-L1 (aa)
22	DVSKRPS	純系 18、18B CDR-L2 (aa)
23	CSYAGRYNSVL	純系 18 CDR-L3 (aa)
24	SSYAGRYNSVL	純系18B CDR-L3 (aa)
25	TGTSSDVGGYNYVS	純系 17 CDR-L1 (aa)

26	SNNQRPS	純系 17 CDR-L2 (aa)
27	AAWDDSLSVV	純系 17 CDR-L3 (aa)
28	SGSSSNIGNNYVS	純系 76 CDR-L1 (aa)
29	DNDKRPS	純系 76 CDR-L2 (aa)
30	GTWDGNLSAV	純系 76 CDR-L3 (aa)
31	QGDSLRSYYAS	純系 5 CDR-L1 (aa)
32	DKNNRPS	純系 5 CDR-L2 (aa)
33	NSRDSSGNNWV	純系 5 CDR-L3 (aa)
34	GGGSGGGGSGGGGS	連接子 (aa)
35	GISWNSGRIGY	CDR-H2
36	X ₁ GX ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ S X ₁ = T、S或Q；X ₃ = T、S或D；X ₄ = T或S；X ₅ = 空或S；X ₆ = 空、D或N；X ₇ = 空或V；X ₈ = 空、G或I；X ₉ = 空、G或R；X ₁₀ = S、Y或N；X ₁₁ = D或N；X ₁₂ = D或Y；X ₁₃ = V或A	CDR-L1 共同序列
37	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ RPS X ₁ = D或S；X ₂ = V、N或K；X ₃ = S、N或D；X ₄ = K、Q或N	CDR-L2 共同序列
38	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁ = C、S、A、G或N；X ₂ = S、A或T；X ₃ = Y、W或R；X ₄ = A或D；X ₅ = G、D或S；X ₆ = R、S或N；X ₇ = Y、L或G；X ₈ = N或S；X ₉ = S或空；X ₁₀ = V、A或N；X ₁₁ = W或空；X ₁₂ = L或V。	CDR-L3
39	EVKLQESGPGLVAPSQLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIW GSETTYYNALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGS YAMDYWGQGTSTVTSS	FMC63 VH
40	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSR LHSGVPSRFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT	FMC63VL
41	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNVVKQRPGQGLEWIGQI YPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISS VVDFYFDYWGQGTSTVTSS	SJ25C1VH
42	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSAT YRNSGVPRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKL EI	SJ25C1 VL
43	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	連接子
44	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC	純系 488

	CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGCTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTACGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCTT GTCTTTGTCTCCAGGGGAGACCGCCACCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTATTAACCACTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC CGGCTCCTCATCTATGATGCCTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAG GTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCC TAGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTCAC CCTCGAATGTACACTTTTGCCAGGGGACCAAACTGGATATCAAA	scFv (nt)
45	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLS PGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAITGIPARFSGSGS GTDFTLTISSELPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLDIK	純系 488 scFv (aa)
46	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGCTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTACGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCGTCACTTGCCAGGCGAGTCAGGA CATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAGAGCCCCTA AGTCTCTGATCTACGATGCATCCAATGTGAAAGCAGGGGTCCCATCAAGG TTCAGTGGGGGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCT GCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCC CTCAGGCGTACACTTTTGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA	純系 1304 scFv (nt)
47	QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIRMTQSPSSLSAS VGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDASNKAGVPSRFSGG GSGTDFLTISSELPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLEIK	純系 1304 scFv (aa)
48	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGCTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTACGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCT GGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGA CCTTGGTGGTTACAATTATGTCTCCTGGTATCAACACCGCCCAGGCAAAGC CCCCAACTCATCATTTATGATGTCAGTGTTCGGGCCCTCAGGGGTTTCTGA TCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGG GCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCGGCTCATATACAAGCA GTAGCACTCTTCTTTGGGTGTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	純系 285 scFv (nt)
49	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNANKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS	純系 285 scFv (aa)

	PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIHYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL	
50	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGGCTGTGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTC CGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAATCAGCAGTG GTGTTGATAGTCATAGGTATGTCTCCTGGTACCAACACCACCCAGGCAA GCCCCAAACTCATGATTTATGATTTTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCT GATCGTTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCT GGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTACTATTGCAGCTCATATGCAGC CATCTCCCTAATTATGTCTTCGGAAGTGGACCAAGCTCACCGTCCTA	純系 192B scFv (nt)
51	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPRSVSGS PGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMYDFSKRPSGVPDRFSG SKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAAISPNYVFGTGKLTVL	純系 192B scFv (aa)
52	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCT GGGTCTCCTGGACATTTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGAAGTGA CGTCGGTGGTTTTGATTATGTCTCCTGGTACCAGCATAACCCAGGCAAAGC CCCCAAACTCATAATTTATGATGTCTACTAAGCGGCCCTCAGGGGTCTCTAA TCGTTTCTCTGGCGCCAAGTCTGGCATCACGGCCTCCCTGACCATCTCTGG GCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTACTTGCACCTCATATAGACCCG GTCCAACATTTGTCTTCGGCACCGGGACCAAGCTCACCGTCCTA	純系 328 scFv (nt)
53	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS PGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNPGKAPKLIHYDVTKRPSGVSNRFSG AKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGKLTVL	純系 328 scFv (aa)
54	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGGACATCCAGTTGACCCAGTCTCCTTCCACCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAG TATTAGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA AGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCCAGG TTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTACCATCAGCAGCCTG CAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCCCT CTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA	純系 227 scFv (nt)

55	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSAS VGDRVITICRASQISRWLAWYQKPKGAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS GTDFTFTISLQPEDATYYCQYQDNPLTFGGGKVEIK	純系 227 scFv (aa)
56	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGCTCCCTGTATCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTG TCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAG CATTAGTCACTACTTGGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA AGCTCCTGATCTTTGATGCCTCCCGTTTGCAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTG CAACCTGAAGATTTTGCACATACTACTGTCAACAGAGTTACGGTGCCCC TATGTTCACTTTCCGGCCCTGGGACCAGAGTGGATCTCAA	純系 1300 scFv (nt)
57	QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGSAIRMTQSPSTLSAS VGDRVITICRASQISRWLAWYQKPKGAPKLLIFDASRLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYGAPMFTFGPGTRVDLK	純系 1300 scFv (aa)
58	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGCTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAAATGGTCACAGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCCGCCTCCGTGTCT GGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGGACCAGCAGTGA CGTTGGTGCTTATAACTTTGTCTCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGC CCCCAAATTCCTCATTTATGACAATAATAACGACCCCCAGGGATTCTCTG ACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACC GGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGCAACATGGGATAG CGGCCTGAGTGCTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTTA	純系 1 scFv (nt)
59	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDVGAYNFVSWYQQLPGTAPKFLIYDNNKRPPGIPDRFSGS KSGTSATLGITGLQTGDEADYYCATWDSGLSAVVFGGGKLTVL	純系 1 scFv (aa)
60	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTMTVTVSS	VH 純系 192B (aa)
61	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTMTVTVSS	VH 純系328 (aa)
62	QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAETHAFDIWGQGTMTVTVSS	VH 純系 1304

		純系 1300 (aa)
63	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGT VVTVSS	VH 純系 227 、 488 、 241 (aa)
64	QAVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMYDF SKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAAISPNYVFGTGT KLTVL	VL 純系 192B (aa)
65	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL	VL 純系285 (aa)
66	QSALTQPASVSGSPGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNP GKAPKLIYDV TKRPSGVSNRFSGAKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGT KL TVL	VL 純系328 (aa)
67	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNFVSWYQQLPGTAPKFLIYDN NKRPPGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCATWDSGLSAVVFGGG TKLTVL	VL 純系1 (aa)
68	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDAS NVKAGVPSRFSGGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTK LEIK	VL 純系 1304 (aa)
69	AIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISHYLA WYQQKPGKAPKLLIFDASRL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYGAPMFTFGPGTRVDL K	VL 純系 1300 (aa)
70	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQPEDATYYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIK	VL 純系227 (aa)
71	EIVLTQSPATLSLSPGETATLSCRASQSINH YLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLDI K	VL 純系488 (aa)
72	GISWNSGSIGYADSVKG	CDR-H2 純系 1304 純系 1300 純系227 純系488 純系241 (aa)
73	TGISSGVDSHRYVS	CDR-L1 純系 192B 純系192

		(aa)
74	TGTSSDLGGYNYVS	CDR-L1 純系285 (aa)
75	TGTRSDVGGFDYVS	CDR-L1 純系328 (aa)
76	TGTSSDVGAYNFVS	CDR-L1 純系1 (aa)
77	QASQDISNYLN	CDR-L1 純系 1304 純系241 (aa)
78	RASQSISHYLA	CDR-L1 純系 1300 (aa)
79	RASQSISRWLA	CDR-L1 純系227 (aa)
80	RASQSINHYLA	CDR-L1 純系488 (aa)
81	GISWNSGRIG	CDR-H2
82	GISWNSGSIG	CDR-H2
83	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁ = T、Q或R；X ₂ = G或A；X ₃ = I、T或S；X ₄ = S、R或Q；X ₅ = 空或S；X ₆ = 空、D或G；X ₇ = 空、V或L；X ₈ = D、G或S；X ₉ = S、G、A或I；X ₁₀ = H、Y、F、S或N；X ₁₁ = R、N、D或H；X ₁₂ = Y、F或W；X ₁₃ = V或L；X ₁₄ = S、N或A	CDR-L1 共同序列
84	DX ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₂ = F、V、N或A；X ₃ = S、T或N；X ₄ = K、V、N或R；X ₅ = R、V或L；X ₆ = P、K、A或E；X ₇ = S、P、A或T	CDR-L2 共同序列
85	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁ = S、G、T、A或Q；X ₂ = S、T或Q；X ₃ = Y、W或S；X ₄ = A、T、R、D或Y；X ₅ = A、S、P、G或N；X ₆ = I、S、G、T、L、A或H；X ₇ = S、P或L；X ₈ = P、T、S、Q、M、R或空；X ₉ = N、L、A、M或空；X ₁₀ = L或空；X ₁₁ = Y、W、F、V或L；X ₁₂ = V或T	CDR-L3 共同序列
86	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCAT GCACTGGGTCCGGAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGTCCCTGTTTCTGCAAATGAA CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGGCTGTGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTC CGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAATCAGCAGTG GTGTTGATAGTCATAGGTATGTCTCCTGGTACCAACACCACCCAGGCAAA GCCCCAAACTCATGATTTATGATTTTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCT	純系192 scFv (nt)

	GATCGTTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTACTATTGCTGCTCATATGCAGCATCTCCCCCTAATTATGTCTTCGGAAGTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA	
87	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNALNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAEHAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQAVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMYDFSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAAISPNYVFGTGTCLTVL	純系 192 scFv (aa)
88	GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGGGGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTACAGGCGGAGGTGGCTCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCGTCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAGAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATGTGAAAGCAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGGGGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCAGGCGTACACTTTTGCCAGGGGACCAAGCTGGATATCAAA	純系 241 scFv (nt)
89	EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNALNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGYHYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGSGGGGSAIRMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGGSGGTDFLTISLQPEDFATYYCQSYSTPQAYTFGQGTKLDIK	純系 241 scFv (aa)
90	AIRMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGGSGGTDFLTISLQPEDFATYYCQSYSTPQAYTFGQGTKLDIK	VL 純系 241 (aa)
91	QAVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMYDFSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAAISPNYVFGTGTCLTVL	VL 純系 192
92	MPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTW SRESPLKPKLKLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQMGGFYLCQPGPPSEKA WQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLY VWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSL NQSLSDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSR GPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMMETGLLLPRATAQDAGKY YCHRGNTMSFHEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGIL HLQRALVLRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGR AQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEEEGEGYEEPDE EDSEFYENDSNLQDQLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDDEL TQPVARTMDFLSPHGS AWDP SREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQP GPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGGRMGTWSTR	CD19 寄 存 號 P15391 智人
93	DFSKRPS	CDR-L2 純 系 192B 、 純系192
94	DVTVRPS	CDR-L2 純系285
95	DVTKRPS	CDR-L2 純系328
96	DNNKRPP	CDR-L2

		純系1
97	DASNVKA	CDR-L2 純 系 1304 純系241
98	DASRLAS	CDR-L2 純 系 1300
99	DASNLET	CDR-L2 純系227
100	DASNRAT	CDR-L2 純系488
101	SSYAAISPNYV	CDR-L3 純 系 192B
102	CSYAAISPNYV	CDR-L3 純系192
103	GSYTSSSTLLWV	CDR-L3 純系285
104	TSYRPGPTFV	CDR-L3 純系328
105	ATWDSGLSAVV	CDR-L3 純系1
106	QQSYSTPQAYT	CDR-L3 純 系 1304 純系241
107	QQSYGAPMFT	CDR-L3 純 系 1300
108	QQYDNLPLT	CDR-L3 純系227
109	QQSYSHPRMYT	CDR-L3 純系488
110	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ $X_1 = T、Q、S或R；$ $X_2 = G或A；$ $X_3 = I、T、D或S；$ $X_4 = S、R、T或Q；$ $X_5 = 空或S；$ $X_6 = 空、D、D或G；$ $X_7 = 空、V或L；$ $X_8 = X或空；$ $X_9 = X或空；$ $X_{10} = X；$ $X_{11} = X；$ $X_{12} = Y、F、D或W；$ $X_{13} = V、A或L；$ $X_{14} = S、N或A$	CDR-L1 共 同 序 列

111	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ $X_1 = T、Q、S或R；$ $X_2 = G或A；$ $X_3 = I、T、D或S；$ $X_4 = S、R、T或Q；$ $X_5 = 空或S；$ $X_6 = G、D、N或空；$ $X_7 = 空、V或L；$ $X_8 = D、G、I、L、S或空；$ $X_9 = S、G、A、I、R或空；$ $X_{10} = H、Y、F、S或N；$ $X_{11} = R、N、D、H或Y；$ $X_{12} = Y、F、D或W；$ $X_{13} = V、A或L；$ $X_{14} = S、N或A$	CDR-L1 共同序列
112	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ $X_1=D或S；$ $X_2 = F、V、N、K或A；$ $X_3 = S、T、D或N；$ $X_4 = K、V、N、Q或R；$ $X_5 = R、V或L；$ $X_6 = P、K、A或E；$ $X_7 = S、P、A或T$	CDR-L2 共同序列
113	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ $X_1 = C、S、A、G或N；$ $X_2 = S、A或T；$ $X_3 = Y、W或R；$ $X_4 = A或D；$ $X_5 = G、D或S；$ $X_6 = R、S或N；$ $X_7 = Y、L或G；$ $X_8 = N或S；$ $X_9 = S、N或空；$ $X_{10} = 空；$ $X_{11} = V、A或W；$ $X_{12} = L或V。$	CDR-L3
114	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ $X_1 = S、G、T、A、Q、C或N；$ $X_2 = S、Q、A或T；$ $X_3 = Y、S、W、R；$ $X_4 = A、D、R、T或Y；$ $X_5 = A、S、P、G、N或D；$ $X_6 = I、S、G、T、A、L、H、R、N；$ $X_7 = S、P、L、Y、G；$ $X_8 = P、T、S、Q、M、R、N或空$ $X_9 = S、L、N、A、M或空；$ $X_{10} = L或空；$ $X_{11} = Y、W、F、V、A或L；$ $X_{12} = V、T或L$	CDR-L3 共同序列
115	$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ $X_1 = X；$	CDR-L3 共同序列

	$X_2 = S、Q、A$ 或 T ； $X_3 = Y、S、W、R$ ； $X_4 = A、D、R、T$ 或 Y ； $X_5 = X$ $X_6 = X$ $X_7 = S、P、L、Y、G$ ； $X_8 = X$ 或空 $X_9 = X$ 或空 $X_{10} = L$ 或空； $X_{11} = X$ $X_{12} = V、T$ 或 L	列
116	GTWDISLRFGV	CDR-L3 純系79
117	CSYEAPHTTYV	CDR-L3 純系835
118	AAWDDSLNVV	CDR-L3 純系184
119	CSYAGSYTFEV	CDR-L3 純系505
120	CSFAGYYTYWL	CDR-L3 純系506
121	SSXAGRKYV	CDR-L3 純系305
122	GGGS	連接子 人工
123	GGGGS	連接子 人工
124	ESKYGPPCPPCP	間隔子 (IgG4 鉸鏈)(aa) 智人
125	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCTTGCCCT	間隔子 (IgG4 鉸鏈)(nt) 智人
126	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK	鉸鏈 - CH3間隔子 智人
127	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLK	鉸鏈 - CH2- CH3間隔子 智人
128	RWPESPKAQASSVPTAQPAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAP	IgD-鉸鏈 -Fc 智人

	PSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVS YVTDH	
129	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (寄存號 P10747 之胺基 酸 153- 179) 智人
130	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKP FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (寄 存 號 P10747 之 胺 基 酸 114- 179) 智人 智人
131	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (P10747 之 胺 基 酸 180- 220) 智人
132	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL 至 GG) 智人
133	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL	4-1BB (Q07011. 1之胺基 酸 214- 255) 智人
134	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3ζ 智人
135	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3ζ 智人
136	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALP PR	CD3ζ 智人
137	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A 人工
138	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISG DLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFE NLEIIRGRTKQHGGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVVISGKNLNCYANTIN WKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRN VSRGRECVDKCNLLEGEPRFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQ CAHYIDGPHCVKTCAPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGP GLEGCPTNGPKIPSATGMVGALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR 人工

【符號說明】

無



【序列表】

<110> 美商奇諾治療有限公司(Juno Therapeutics, Inc.)

<120> 對CD19具專一性之抗體及嵌合抗原受體

<140> 104128254

<141> 2015-08-27

<150> US 62/043,273

<151> 2014-08-28

<150> US 62/078,942

<151> 2014-11-12

<160> 138

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 738

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> 純系18 scFv (nt)

<400> 1

gaagtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctgtgcag cctctggatt cacccttggat gattatgccg tgcaactggg cggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggc attagttgga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaaggggcg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcaccgtct cctcagggtg aggcgggttc ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
cagtctgccc tgactcagcc tcgtcagtg tccggcttcc ctggacaatc agtcaccatc 480
tctgcaactg gaaccaccag tgatgatgtc tcttggtacc aacaacacc aggcaagacc 540
cccaactta tgctttatga tgcagtaag cggccctccg gggtccctca tcgttctct 600
ggctccaggt ctggcagagc ggcctccctg atcatctctg ggctccagac tgaggatgag 660
gctgattatt tctgtgtctc atatgcaggc cgatacaact ctgtcctttt cggcggaggg 720
accaagctga ccgtccta 738

<210> 2

<211> 246

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> 純系18 scFv (aa)

<400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile
145 150 155 160
Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln His
 165 170 175
Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro
 180 185 190
Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Arg Ala Ala
 195 200 205
Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe
210 215 220
Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu
 245

<210> 3

<211> 738

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<223> 純系18B scFv (nt)

<400> 3

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctgtgtag cctctggatt cacctttgat gattatgccg tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcctgttt 240

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcaccgtct cctcagggtgg aggcggttca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
cagcttgccc tgactcagcc tcgctcagtg tccggctttc ctggacaatc agtcaccatc 480
tcttgcactg gaaccaccag tgatgatgtc tcttgggtacc aacaacaccc aggcaaagcc 540
ccccaactta tgctttatga tgtcagtaag cggccctccg gggtcctca tcgtttctct 600
ggctccaggt ctggcagagc ggccctccctg atcatctctg ggctccagac tgaggatgag 660
gctgattatt tctgcagctc atatgcaggc cgatacaact ctgtcctttt cggcggaggg 720
accaagctga ccgtccta 738

<210> 4
<211> 246
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系18B scFv (aa)

<400> 4
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Phe Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile
145 150 155 160
Ser Cys Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser Trp Tyr Gln Gln His
165 170 175
Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro
180 185 190
Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Arg Ala Ala
195 200 205
Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe
210 215 220
Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu

<210> 5
<211> 750
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系17 scFv (nt)

<400> 5
gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctctgtcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
gtcaccgtct cctcaggttg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
cagctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 480
ttctgcactg gaaccagcag tgacgttggg ggttataact atgtctcctg gtaccagcag 540
ctcccaggaa cggcccccaa actcctcacc tatagtaata atcagcggcc ctcaggggtc 600
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acctcagcct ccctggccat cagtgggctc 660
cggtcggagg atgaggctga ttattactgt gcagcatggg atgacagcct gagtgtggta 720
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtcctc 750

<210> 6
<211> 250
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系17 scFv (aa)

<400> 6
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115120125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu

130135140

Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile

145150155160

Phe Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

165170175

Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser

180185190

Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195200205

Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg Ser Glu Asp

210215220

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Val Val

225230235240

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245250

<210> 7
<211> 747
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系76 scFv (nt)

<400> 7
gaagtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctgtgagc cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcaccgtct cctcaggtgg aggcgggtca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
cagtcgtgtc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagga ggteaccatc 480
tctgtctctg gaagcagctc caacattggg aataattatg tatcctggtg ccagcaactc 540
ccaggaacag cccccaaact cctcatttat gacaatgata agcgaccctc agggattcct 600
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 660
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggatg gcaatctgag tgctgtattc 720
ggcggaggga ccaaggtgac cgtccta 747

<210> 8
<211> 249
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系76 scFv (aa)

<400> 8
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln Glu Val Thr Ile
145 150 155 160
Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp
165 170 175
Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn
180 185 190
Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser
195 200 205
Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu
210 215 220
Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Gly Asn Leu Ser Ala Val Phe
225 230 235 240
Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
245

<210> 9
<211> 744
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系5 scFv (nt)

<400> 9
gaagtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctgtgagc cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagt t tga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcctgttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360

gtcacccgtct cctcaggtgg aggcgggtca ggcggagggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
tcctatgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 480
acatgccaaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 540
caggccccctg tacttgtcat ctatgataaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 600
ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 660
gatgaggctg actactactg caactcccgg gacagcagtg gtaacaattg ggtgttcggc 720
ggagggacca agctgaccgt ccta 744

<210> 10
<211> 248
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系5 scFv (aa)

<400> 10
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
130 135 140
Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln Thr Val Arg Ile
145 150 155 160
Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln
165 170 175
Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr Asp Lys Asn Asn
180 185 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn
195 200 205
Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp
210 215 220
Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn Trp Val Phe Gly
225 230 235 240
Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 11
<211> 125
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VH
(純系18, 18B回復突變, 76, 285)
(aa)

<400> 11
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 12
<211> 125
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VH (純系17, 5, 1, 192)
(aa)

<400> 12
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Gln Leu Met Leu Tyr Asp Val
35 40 45
Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro His Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser
50 55 60
Gly Arg Ala Ala Ser Leu Ile Ile Ser Gly Leu Gln Thr Glu Asp Glu
65 70 75 80
Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 15
<211> 110
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL, 純系17 (aa)

<400> 15
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Phe Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser
85 90 95
Leu Ser Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 16
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL, 純系76 (aa)

<400> 16
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Glu Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Gly Asn Leu
85 90 95
Ser Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 17
<211> 108
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL, 純系5 (aa)

<400> 17
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala
20 25 30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Asp Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn
85 90 95
Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 18
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-H1 (aa)

<400> 18
Asp Tyr Ala Met His

15

<210> 19<211> 17<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成<220><223> CDR-H2 (aa)<400> 19Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys15Gly

<210> 20<211> 16<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 合成<220><223> CDR-H3 (aa)<400> 20Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe Asp Ile15

<210> 21<211> 9<212> PRT<213> 智人<220><223> 純系18, 18B CDR-L1 (aa)<400> 21Thr Gly Thr Thr Ser Asp Asp Val Ser15

<210> 22
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系18, 18B CDR-L2 (aa)

<400> 22
Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系18 CDR-L3 (aa)

<400> 23
Cys Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu
1 5 10

<210> 24
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系18B CDR-L3 (aa)

<400> 24
Ser Ser Tyr Ala Gly Arg Tyr Asn Ser Val Leu
1 5 10

<210> 25
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系17 CDR-L1 (aa)

<400> 25
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系17 CDR-L2 (aa)

<400> 26
Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser
1 5

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系17 CDR-L3 (aa)

<400> 27
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Val Val
1 5 10

<210> 28
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系76 CDR-L1 (aa)

<400> 28
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系76 CDR-L2 (aa)

<400> 29

Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 30
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系76 CDR-L3 (aa)

<400> 30
Gly Thr Trp Asp Gly Asn Leu Ser Ala Val
1 5 10

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系5 CDR-L1 (aa)

<400> 31
Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Ala Ser
1 5 10

<210> 32
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系5 CDR-L2 (aa)

<400> 32
Asp Lys Asn Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 33
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系5 CDR-L3 (aa)

<400> 33
Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Asn Trp Val
1 5 10

<210> 34
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> 連接子 (aa)

<400> 34
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 35
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-H2

<400> 35
Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr
1 5 10

<210> 36
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L1共同序列

<220>

<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Thr、Ser或Gln

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Thr、Ser或Asp

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Thr或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 空或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = 空、Asp或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = 空或Val

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = 空、Gly或Ile

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = 空、Gly或Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = Ser、Tyr或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Ser、Asn或Asp

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Lys、Gln或Asn

<400> 37
Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Pro Ser
1 5

<210> 38
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L3

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Cys、Ser、Ala、Gly或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Ser、Ala或Thr

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Tyr、Trp或Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ala或Asp

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Gly、Asp或Ser

<220>

<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Arg、Ser或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Tyr、Leu或Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Asn或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Ser或空

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = Val、Ala或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Trp或空

<220>
<221> 變異體
<222> 12
<223> Xaa = Leu或Val

<400> 38
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 39
<211> 120
<212> PRT
<213> 小鼠

<220>

<223> FMC63 VH

<400> 39

Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15
Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr
 20 25 30
Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
 50 55 60
Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 40

<211> 107

<212> PRT

<213> 小鼠

<220>

<223> FMC63VL

<400> 40

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 Lys Tyr
 20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
Tyr His 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 Thr
 100 105

<210> 41

<211> 122

<212> PRT

<213> 小鼠

<220>

<223> SJ25C1VH

<400> 41

Glu Val Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
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 Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
Gly Gln Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60
Lys Gly Gln Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Gly Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
Ala Arg Lys Thr Ile Ser Ser Val Val Asp Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 42

<211> 106

<212> PRT

<213> 小鼠

<220>

<223> SJ25C1 VL

<400> 42

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
 20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Pro Leu Ile
 35 40 45
Tyr Ser Ala Thr Tyr Arg Asn Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
 50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
65 70 75 80
Lys Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Tyr
 85 90 95
Thr Ser Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105

<210> 43

<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> 連接子

<400> 43
Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
1 5 10 15
Lys Gly

<210> 44
<211> 747
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系488 scFv (nt)

<400> 44
gaagtgcagc tgggtgcagtc tgggggagggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcaactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcaccgtct cctcaggttg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
gaaattgtgt tgacgcagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga gaccgccacc 480
ctctcctgca gggccagtc a gattatcac cactacttag cctggtacca acagaaacct 540
ggccaggtc cccggctcct catctatgat gcctccaaca gggccactgg cateccagcc 600
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctagacct 660
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtc accctcgaat gtacactttt 720
ggccagggga ccaaactgga tatcaaa 747

<210> 45
<211> 249
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系488 scFv (aa)

<400> 45
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu
 130 135 140
Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Thr
145 150 155 160
Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr Leu Ala Trp Tyr
 165 170 175
Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser
 180 185 190
Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
 195 200 205
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala
 210 215 220
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg Met Tyr Thr Phe
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
 245

<210> 46
<211> 747
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系1304 scFv (nt)

<400> 46
cagatgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaataa acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcaccgtct cctcaggttg aggcggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
gccatccgga tgaccagtc tccatctccc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 480

gtcacttgcc aggcgagtc gacattagc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 540
ggaagagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatg tgaaagcagg ggtcccatca 600
aggttcagtg ggggtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 660
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctcaggc gtacactttt 720
ggccagggga ccaagctgga gatcaaa 747

<210> 47
<211> 249
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系1304 scFv (aa)

<400> 47
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met
130 135 140
Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160
Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr
165 170 175
Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser
180 185 190
Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly
195 200 205
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr Phe
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 48

<211> 756
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系285 scFv (nt)

<400> 48
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctctgtcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaataa acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcaccgtct cctcaggtgg aggcgggtca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
cagctgtccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 480
tctctgactg gaaccagcag tgaccttggg ggttacaatt atgtctctg gtatcaaac 540
cgcccaggca aagcccccaa actcatcatt tatgatgtca ctgttcggcc ctccaggggtt 600
tctgatcgct tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgacct ctctgggctc 660
caggctgagg acgaggctga ttattactgc ggctcatata caagcagtag cactcttctt 720
tgggtgttcg gcggaggggac caagctcacc gtccta 756

<210> 49
<211> 252
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系285 scFv (aa)

<400> 49
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile

145	150	155	160
Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser			
	165	170	175
Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp			
	180	185	190
Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys			
	195	200	205
Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp			
	210	215	220
Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu			
225	230	235	240
Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
	245	250	

<210> 50
<211> 753
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系192B scFv (nt)

<400> 50
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcaactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
gtcaccgtct cctcagggtg aggcgggtca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
caggctgtgc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 480
tcttgcactg gaatcagcag tgggtgttgat agtcataagg atgtctcctg gtaccaaac 540
caccagga aagccccaa actcatgatt tatgatttca gtaagcggcc ctcagggggtc 600
cctgatcggt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgacct cctctgggctc 660
caggctgagg atgaggctga ttactattgc agtcatatg cagccatctc ccctaattat 720
gtcttcggaa ctgggaccaa gtcaccgtc cta 753

<210> 51
<211> 251
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系192B scFv (aa)

<400> 51
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

202530

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

354045

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val

505560

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe

65707580

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

859095

Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe

100105110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

115120125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Leu

130135140

Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile

145150155160

Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His Arg Tyr Val Ser

165170175

Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Asp

180185190

Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys

195200205

Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp

210215220

Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr

225230235240

Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245250

<210> 52
<211> 750
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系328 scFv (nt)

<400> 52
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctgtgacag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcaccgtct cctcaggtgg aggcgggtca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
cagctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacattc gateaccatc 480
tctgtcactg gaaccagaag tgacgtcgtt ggttttgatt atgtctctg gtaccagcat 540
aaccaggca aagccccc aa actcataatt tatgatgtca ctaagcggcc ctcaggggtc 600

tctaategct tctctggcgc caagtctggc atcacggcct ccctgacct ctctgggctc 660
caggctgagg acgaggctga ttattactgc acctcatata gacccggtcc aacatttgtc 720
ttcggcaccg ggaccaagct caccgtccta 750

<210> 53
<211> 250
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly His Ser Ile Thr Ile
145 150 155 160
Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe Asp Tyr Val Ser
165 170 175
Trp Tyr Gln His Asn Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Ile Ile Tyr Asp
180 185 190
Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ala Lys
195 200 205
Ser Gly Ile Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp
210 215 220
Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Arg Pro Gly Pro Thr Phe Val
225 230 235 240
Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250

<210> 54
<211> 741
<212> DNA
<213> 智人

<220>

<223> 純系227 scFv (nt)

<400> 54
gaagtgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacccttggat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcagggt attagttaga atagtggtag cataggctat 180
gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaataa acagctctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcacccgtct cctcagggtgg aggcgggttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
gacatccagt tgaccacagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 480
atcacttgcc gggccagtc gagtattagt aggtgggttg cctggatatc gcagaaacca 540
gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaacagg ggtcccatcc 600
agggtcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagcct 660
gaagatattg caacatatta ctgtcaacag tatgataatc tccctctcac ttccggcgga 720
gggaccaagg tggagatcaa a 741

<210> 55
<211> 247
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系227 scFv (aa)

<400> 55
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu
130 135 140
Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala Trp Tyr
165 170 175
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser
180 185 190

Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205
Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala
210 215 220
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly
225 230 235 240
Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 56
<211> 744
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系1300 scFv (nt)

<400> 56
cagatgcagc tgggtgcagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctctgtcag cctctggatt caccctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag cataggctat 180
gcggactctg tgaaggggcg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaata acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacagtg 360
gtcaccgtct cctcagggtgg aggcgggtca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
gccatccgga tgaccagtc tcttccacc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 480
atcacttgcc gggccagtc gagcattagt cactacttgg cctgggtatca acagaaacca 540
gggaaagccc ctaagctcct gatctttgat gcctcccgtt tggcaagtgg ggtcccatca 600
agggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 660
gaagattttg cgacatacta ctgtcaacag agttacggtg cccctatgtt cactttcggc 720
cctgggacca gagtggatct caaa 744

<210> 57
<211> 248
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系1300 scFv (aa)

<400> 57
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met
130 135 140
Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160
Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser His Tyr Leu Ala Trp Tyr
165 170 175
Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Asp Ala Ser
180 185 190
Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met Phe Thr Phe Gly
225 230 235 240
Pro Gly Thr Arg Val Asp Leu Lys
245

<210> 58
<211> 753
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系1 scFv (nt)

<400> 58
gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcttgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
gcggaactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
gtcacagtct cctcagggtg aggccgttca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
cagtctgccc tgactcagcc cgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 480
tcttgcactg ggaccagcag tgacgttggg gcttataact ttgtctctg gtaccagcag 540
ctcccaggaa cagcccccaa attcctcatt tatgacaata ataaacgacc cccagggatt 600
cctgaccgat tctctggctc caagtctggc acgtcagcca ccttgggcat caccggactc 660
cagactgggg acgaggccga ttattactgc gcaacatggg atagcggcct gagtgtctgtg 720
gtattcggcg gagggaccaa gctgaccgtc cta 753

<210> 59

<211> 251
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系1 scFv (aa)

<400> 59
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Ala Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Ile Thr Ile
145 150 155 160
Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Phe Val Ser
165 170 175
Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Phe Leu Ile Tyr Asp
180 185 190
Asn Asn Lys Arg Pro Pro Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys
195 200 205
Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp
210 215 220
Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Ser Gly Leu Ser Ala Val
225 230 235 240
Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245 250

<210> 60
<211> 125
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VH 純系192B (aa)

<400> 60
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 61
<211> 125
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VH 純系328 (aa)

<400> 61
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 62
<211> 125

<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VH 純系1304 純系1300 (aa)

<400> 62
Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 63
<211> 125
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VH 純系227、488、241 (aa)

<400> 63
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
 100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 64
<211> 111
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL 純系192B (aa)

<400> 64
Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His
20 25 30
Arg Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Ala Ile
85 90 95
Ser Pro Asn Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 65
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL 純系285 (aa)

<400> 65
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Ile Ile Tyr Asp Val Thr Val Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Ser	Tyr	Thr	Ser	Ser		
				85						90						95	
Ser	Thr	Leu	Leu	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu		
				100						105						110	

<210> 66
<211> 110
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL 純系328 (aa)

<400> 66

Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	His		
1		5							10						15		
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Arg	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Phe		
				20						25						30	
Asp	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	His	Asn	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu		
35							40						45				
Ile	Ile	Tyr	Asp	Val	Thr	Lys	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Ser	Asn	Arg	Phe		
50						55						60					
Ser	Gly	Ala	Lys	Ser	Gly	Ile	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu		
65						70						75		80			
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ser	Tyr	Arg	Pro	Gly		
				85						90						95	
Pro	Thr	Phe	Val	Phe	Gly	Thr	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu				
				100						105						110	

<210> 67
<211> 111
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL 純系1 (aa)

<400> 67

Gln	Ser	Ala	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln		
1		5							10						15		
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Ala	Tyr		
				20						25						30	
Asn	Phe	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Phe		
35							40						45				
Leu	Ile	Tyr	Asp	Asn	Asn	Lys	Arg	Pro	Pro	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe		
50						55						60					

Phe Asp Ala Ser Arg Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met
85 90 95
Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Val Asp Leu Lys
100 105

<210> 70
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL 純系227 (aa)

<400> 70
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 71
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL 純系488 (aa)

<400> 71
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Thr Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg
85 90 95
Met Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
100 105

<210> 72
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-H2 純系1304 純系1300 純系227 純系488 純系241 (aa)

<400> 72
Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 73
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L1 純系192B 純系192 (aa)

<400> 73
Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His Arg Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 74
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L1 純系285 (aa)

<400> 74
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Leu Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 75
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L1 純系328 (aa)

<400> 75
Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly Gly Phe Asp Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 76
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L1 純系1 (aa)

<400> 76
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ala Tyr Asn Phe Val Ser
1 5 10

<210> 77
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L1 純系1304 純系241 (aa)

<400> 77
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 78
<211> 11

<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L1 純系1300 (aa)

<400> 78
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser His Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L1 純系227 (aa)

<400> 79
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L1 純系488 (aa)

<400> 80
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn His Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-H2

<400> 81
Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly
1 5 10

<210> 82
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-H2

<400> 82
Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly
1 5 10

<210> 83
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L1
共同序列

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Thr、Gln或Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Gly或Ala

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Ile、Thr或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ser、Arg或Gln

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 空或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = 空、Asp或Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = 空、Val或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Asp、Gly或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Ser、Gly、Ala或Ile

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = His、Tyr、Phe、Ser或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Arg、Asn、Asp或His

<220>

<221> 變異體
<222> 12
<223> Xaa = Tyr、Phe或Trp

<220>
<221> 變異體
<222> 13
<223> Xaa = Val或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 14
<223> Xaa = Ser、Asn或Ala

<400> 83
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 84
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L2共同序列

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Phe、Val、Asn或Ala

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Ser、Thr或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Lys、Val、Asn或Arg

<220>

<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Arg、Val或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Pro、Lys、Ala或Glu

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Ser、Pro、Ala或Thr

<400> 84
Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 85
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L3共同序列

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Ser、Gly、Thr、Ala或Gln

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Ser、Thr或Gln

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Tyr、Trp或Ser

<220>

<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ala、Thr、Arg、Asp或Tyr

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Ala、Ser、Pro、Gly或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Ile、Ser、Gly、Thr、Leu、Ala或His

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Ser、Pro或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Pro、Thr、Ser、Gln、Met、Arg或空

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Asn、Leu、Ala、Met或空

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = Leu或空

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Tyr、Trp、Phe、Val或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 12

<223> Xaa = Val或Thr

<400> 85
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 86
<211> 753
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<223> 純系192 scFv (nt)

<400> 86
gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tctctgtcag cctctggatt cacctttgat gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttaga atagtggtag gataggctat 180
gcggactctg taaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgttt 240
ctgcaaataa acagtctgag agctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatcag 300
gggtatcatt actatgatag tgccgaacat gcttttgata tctggggcca agggacaatg 360
gtcaccgtct cctcagggtg aggcgggtca ggcggaggtg gctctggcgg tggcggatcg 420
caggctgtgc tgactcagcc tcgctcagtg tccgggtctc ctggacagtc agtcaccatc 480
tctctgactg gaatcagcag tgggtgtgat agtcataagg atgtctcctg gtaccaaac 540
caccaggcca aagcccccaa actcatgatt tatgatttca gtaagcggcc ctgaggggtc 600
cctgatcggt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgacct ctctgggctc 660
caggctgagg atgaggctga ttactattgc tgctcatatg cagccatctc ccctaattat 720
gtcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 753

<210> 87
<211> 251
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 純系192 scFv (aa)

<400> 87
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

<220>
<223> 純系241 scFv (aa)

<400> 89
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gln Gly Tyr His Tyr Tyr Asp Ser Ala Glu His Ala Phe
100 105 110
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Arg Met
130 135 140
Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160
Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr
165 170 175
Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser
180 185 190
Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Gly Gly Ser Gly
195 200 205
Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220
Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr Phe
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys
245

<210> 90
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL 純系241 (aa)

<400> 90
Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr	Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile	Ser Asn Tyr	
20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys	Leu Leu Ile	
35	40	45	
Tyr Asp Ala Ser	Asn Val Lys Ala Gly Val Pro Ser Arg Phe	Ser Gly	
50	55	60	
Gly Gly Ser Gly	Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala	Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln		
85	90	95	
Ala Tyr Thr Phe	Gly Gln Gly Thr Lys Leu Asp Ile Lys		
100	105		

<210> 91
<211> 111
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> VL 純系192

<400> 91
Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ile Ser Ser Gly Val Asp Ser His
20 25 30
Arg Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Phe Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Ala Ile
85 90 95
Ser Pro Asn Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 92
<211> 556
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD19寄存號P15391

<400> 92

Met	Pro	Pro	Pro	Arg	Leu	Leu	Phe	Phe	Leu	Leu	Phe	Leu	Thr	Pro	Met
1				5					10					15	
Glu	Val	Arg	Pro	Glu	Glu	Pro	Leu	Val	Val	Lys	Val	Glu	Glu	Gly	Asp
			20					25					30		
Asn	Ala	Val	Leu	Gln	Cys	Leu	Lys	Gly	Thr	Ser	Asp	Gly	Pro	Thr	Gln
		35					40					45			
Gln	Leu	Thr	Trp	Ser	Arg	Glu	Ser	Pro	Leu	Lys	Pro	Phe	Leu	Lys	Leu
	50					55				60					
Ser	Leu	Gly	Leu	Pro	Gly	Leu	Gly	Ile	His	Met	Arg	Pro	Leu	Ala	Ile
65				70					75					80	
Trp	Leu	Phe	Ile	Phe	Asn	Val	Ser	Gln	Gln	Met	Gly	Gly	Phe	Tyr	Leu
			85					90					95		
Cys	Gln	Pro	Gly	Pro	Pro	Ser	Glu	Lys	Ala	Trp	Gln	Pro	Gly	Trp	Thr
		100					105					110			
Val	Asn	Val	Glu	Gly	Ser	Gly	Glu	Leu	Phe	Arg	Trp	Asn	Val	Ser	Asp
	115						120					125			
Leu	Gly	Gly	Leu	Gly	Cys	Gly	Leu	Lys	Asn	Arg	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro
	130				135					140					
Ser	Ser	Pro	Ser	Gly	Lys	Leu	Met	Ser	Pro	Lys	Leu	Tyr	Val	Trp	Ala
145				150					155					160	
Lys	Asp	Arg	Pro	Glu	Ile	Trp	Glu	Gly	Glu	Pro	Pro	Cys	Leu	Pro	Pro
		165					170				175				
Arg	Asp	Ser	Leu	Asn	Gln	Ser	Leu	Ser	Gln	Asp	Leu	Thr	Met	Ala	Pro
		180					185					190			
Gly	Ser	Thr	Leu	Trp	Leu	Ser	Cys	Gly	Val	Pro	Pro	Asp	Ser	Val	Ser
	195				200						205				
Arg	Gly	Pro	Leu	Ser	Trp	Thr	His	Val	His	Pro	Lys	Gly	Pro	Lys	Ser
	210				215					220					
Leu	Leu	Ser	Leu	Glu	Leu	Lys	Asp	Asp	Arg	Pro	Ala	Arg	Asp	Met	Trp
225				230					235					240	
Val	Met	Glu	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu	Pro	Arg	Ala	Thr	Ala	Gln	Asp	Ala
		245					250				255				
Gly	Lys	Tyr	Tyr	Cys	His	Arg	Gly	Asn	Leu	Thr	Met	Ser	Phe	His	Leu
	260				265						270				
Glu	Ile	Thr	Ala	Arg	Pro	Val	Leu	Trp	His	Trp	Leu	Leu	Arg	Thr	Gly
	275					280					285				
Gly	Trp	Lys	Val	Ser	Ala	Val	Thr	Leu	Ala	Tyr	Leu	Ile	Phe	Cys	Leu
	290				295					300					
Cys	Ser	Leu	Val	Gly	Ile	Leu	His	Leu	Gln	Arg	Ala	Leu	Val	Leu	Arg
305				310					315					320	
Arg	Lys	Arg	Lys	Arg	Met	Thr	Asp	Pro	Thr	Arg	Arg	Phe	Phe	Lys	Val
		325					330				335				
Thr	Pro	Pro	Pro	Gly	Ser	Gly	Pro	Gln	Asn	Gln	Tyr	Gly	Asn	Val	Leu
	340						345				350				
Ser	Leu	Pro	Thr	Pro	Thr	Ser	Gly	Leu	Gly	Arg	Ala	Gln	Arg	Trp	Ala
	355					360				365					
Ala	Gly	Leu	Gly	Gly	Thr	Ala	Pro	Ser	Tyr	Gly	Asn	Pro	Ser	Ser	Asp
	370				375					380					
Val	Gln	Ala	Asp	Gly	Ala	Leu	Gly	Ser	Arg	Ser	Pro	Pro	Gly	Val	Gly
385				390					395					400	

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
405 410 415
Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
420 425 430
Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly
435 440 445
Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
450 455 460
Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser
465 470 475 480
Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
485 490 495
Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
500 505 510
Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
515 520 525
Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp
530 535 540
Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
545 550 555

<210> 93
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L2 純系192B、純系192

<400> 93
Asp Phe Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 94
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L2 純系285

<400> 94
Asp Val Thr Val Arg Pro Ser
1 5

<210> 95
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L2 純系328

<400> 95
Asp Val Thr Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 96
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L2 純系1

<400> 96
Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro
1 5

<210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L2 純系1304 純系241

<400> 97
Asp Ala Ser Asn Val Lys Ala
1 5

<210> 98
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L2 純系1300

<400> 98
Asp Ala Ser Arg Leu Ala Ser
1 5

<210> 99
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L2 純系227

<400> 99
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 100
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L2 純系488

<400> 100
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 101
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系192B

<400> 101
Ser Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr Val
1 5 10

<210> 102
<211> 11

<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系192

<400> 102
Cys Ser Tyr Ala Ala Ile Ser Pro Asn Tyr Val
1 5 10

<210> 103
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系285

<400> 103
Gly Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Leu Leu Trp Val
1 5 10

<210> 104
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系328

<400> 104
Thr Ser Tyr Arg Pro Gly Pro Thr Phe Val
1 5 10

<210> 105
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系1

<400> 105

Ala Thr Trp Asp Ser Gly Leu Ser Ala Val Val
1 5 10

<210> 106
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系1304 純系241

<400> 106
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Ala Tyr Thr
1 5 10

<210> 107
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系1300

<400> 107
Gln Gln Ser Tyr Gly Ala Pro Met Phe Thr
1 5 10

<210> 108
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系227

<400> 108
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 109
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系488

<400> 109
Gln Gln Ser Tyr Ser His Pro Arg Met Tyr Thr
1 5 10

<210> 110
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L1共同序列

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Thr、Gln、Ser或Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Gly或Ala

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Ile、Thr、Asp或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ser、Arg、Thr或Gln

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 空或Ser

<220>

<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = 空、Asp、Asn或Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = 空、Val或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = 任何胺基酸或空

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = 任何胺基酸或空

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = 任何胺基酸

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = 任何胺基酸

<220>
<221> 變異體
<222> 12
<223> Xaa = Tyr、Phe、Asp或Trp

<220>
<221> 變異體
<222> 13
<223> Xaa = Val、Ala或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 14

<223> Xaa = Ser、Asn或Ala

<400> 110
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 111
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L1共同序列

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Thr、Gln、Ser或Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Gly或Ala

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Ile、Thr、Asp或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ser、Arg、Thr或Gln

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 空或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Gly、Asp、Asn或空

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = 空、Val或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Asp、Gly、Ile、Leu、Ser或空

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Ser、Gly、Ala、Ile、Arg或空

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = His、Tyr、Phe、Ser或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Arg、Asn、Asp、His或Tyr

<220>
<221> 變異體
<222> 12
<223> Xaa = Tyr、Phe、Asp或Trp

<220>
<221> 變異體
<222> 13
<223> Xaa = Val、Ala、Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 14
<223> Xaa = Ser、Asn或Ala

<400> 111

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1510

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<223> CDR-L2
共同序列

<220>

<221> 變異體

<222> 1

<223> Xaa = Asp或Ser

<220>

<221> 變異體

<222> 2

<223> Xaa = Phe、Val、Asn、Lys或Ala

<220>

<221> 變異體

<222> 3

<223> Xaa = Ser、Thr、Asp或Asn

<220>

<221> 變異體

<222> 4

<223> Xaa = Lys、Val、Asn、Gln或Arg

<220>

<221> 變異體

<222> 5

<223> Xaa = Arg、Val或Leu

<220>

<221> 變異體

<222> 6

<223> Xaa = Pro、Lys、Ala或Glu

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Ser、Pro、Ala或Thr

<400> 112
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 113
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L3

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = Cys、Ser、Ala、Gly或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 2
<223> Xaa = Ser、Ala或Thr

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Tyr、Trp或Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ala或Asp

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = Gly、Asp或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = Arg、Ser或Asn

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Tyr、Leu或Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = Asn或Ser

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Ser、Asn或空

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = 空

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Val、Ala或Trp

<220>
<221> 變異體
<222> 12
<223> Xaa = Leu或Val

<400> 113
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 114
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<223> CDR-L3共同序列

<220>

<221> 變異體

<222> 1

<223> Xaa = Ser、Gly、Thr、Ala、Gln、Cys或Asn

<220>

<221> 變異體

<222> 2

<223> Xaa = Ser、Gln、Ala或Thr

<220>

<221> 變異體

<222> 3

<223> Xaa = Tyr、Ser、Trp或Arg

<220>

<221> 變異體

<222> 4

<223> Xaa = Ala、Asp、Arg、Thr或Tyr

<220>

<221> 變異體

<222> 5

<223> Xaa = Ala、Ser、Pro、Gly、Asn或Asp

<220>

<221> 變異體

<222> 6

<223> Xaa = Ile、Ser、Gly、Thr、Ala、Leu、His、Arg 或
Asn

<220>

<221> 變異體

<222> 7

<223> Xaa = Ser、Pro、Leu、Tyr或Gly

<220>

<221> 變異體

<222> 8
<223> Xaa = Pro、Thr、Ser、Gln、Met、Arg、Asn或空

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = Ser、Leu、Asn、Ala、Met或空

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = Leu或空

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = Tyr、Trp、Phe、Val、Ala或Leu

<220>
<221> 變異體
<222> 12
<223> Xaa = Val、Thr或Leu

<400> 114
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 115
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> CDR-L3共同序列

<220>
<221> 變異體
<222> 1
<223> Xaa = 任何胺基酸

<220>
<221> 變異體

<222> 2
<223> Xaa = Ser、Gln、Ala或Thr

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = Tyr、Ser、Trp或Arg

<220>
<221> 變異體
<222> 4
<223> Xaa = Ala、Asp、Arg、Thr或Tyr

<220>
<221> 變異體
<222> 5
<223> Xaa = 任何胺基酸

<220>
<221> 變異體
<222> 6
<223> Xaa = 任何胺基酸

<220>
<221> 變異體
<222> 7
<223> Xaa = Ser、Pro、Leu、Tyr或Gly

<220>
<221> 變異體
<222> 8
<223> Xaa = 任何胺基酸或空

<220>
<221> 變異體
<222> 9
<223> Xaa = 任何胺基酸或空

<220>
<221> 變異體
<222> 10
<223> Xaa = Leu或空

<220>
<221> 變異體
<222> 11
<223> Xaa = 任何胺基酸

<220>
<221> 變異體
<222> 12
<223> Xaa = Val、Thr或Leu

<400> 115
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 116
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系79

<400> 116
Gly Thr Trp Asp Ile Ser Leu Arg Phe Gly Val
1 5 10

<210> 117
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系835

<400> 117
Cys Ser Tyr Glu Ala Pro Thr His Thr Tyr Val
1 5 10

<210> 118
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系184

<400> 118
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Val Val
1 5 10

<210> 119
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系505

<400> 119
Cys Ser Tyr Ala Gly Ser Tyr Thr Phe Glu Val
1 5 10

<210> 120
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系506

<400> 120
Cys Ser Phe Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Trp Leu
1 5 10

<210> 121
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CDR-L3 純系305

<220>
<221> 變異體
<222> 3
<223> Xaa = 任何胺基酸

<400> 121
Ser Ser Xaa Ala Gly Arg Lys Tyr Val
1 5

<210> 122
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> 連接子

<400> 122
Gly Gly Gly Ser
1

<210> 123
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> 連接子

<400> 123
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 124
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 間隔子(IgG4鉸鏈) (aa)

<400> 124
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 125
<211> 36
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 間隔子(IgG4鉸鏈) (nt)

<400> 125
Gly Ala Ala Thr Cys Thr Ala Ala Gly Thr Ala Cys Gly Gly Ala Cys
1 5 10 15
Cys Gly Cys Cys Thr Gly Cys Cys Cys Cys Cys Thr Thr Gly
20 25 30
Cys Cys Cys Thr
35

<210> 126
<211> 119
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 鉸鏈-CH3間隔子

<400> 126
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> 127
<211> 229
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 鉸鏈-CH2-CH3間隔子

<400> 127
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> 128
<211> 282
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgD-鉸鏈-Fc

<400> 128
Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala
1 5 10 15
Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala Pro Ala
20 25 30
Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys

354045

Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu Cys Pro

505560

Ser His Thr Gln Pro Leu Gly Val Tyr Leu Leu Thr Pro Ala Val Gln

65707580

Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val Val Gly

859095

Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly Lys Val

100105110

Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser Asn Gly

115120125

Ser Gln Ser Gln His Ser Arg Leu Thr Leu Pro Arg Ser Leu Trp Asn

130135140

Ala Gly Thr Ser Val Thr Cys Thr Leu Asn His Pro Ser Leu Pro Pro

145150155160

Gln Arg Leu Met Ala Leu Arg Glu Pro Ala Ala Gln Ala Pro Val Lys

165170175

Leu Ser Leu Asn Leu Leu Ala Ser Ser Asp Pro Pro Glu Ala Ala Ser

180185190

Trp Leu Leu Cys Glu Val Ser Gly Phe Ser Pro Pro Asn Ile Leu Leu

195200205

Met Trp Leu Glu Asp Gln Arg Glu Val Asn Thr Ser Gly Phe Ala Pro

210215220

Ala Arg Pro Pro Pro Gln Pro Gly Ser Thr Thr Phe Trp Ala Trp Ser

225230235240

Val Leu Arg Val Pro Ala Pro Pro Ser Pro Gln Pro Ala Thr Tyr Thr

245250255

Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala Ser Arg

260265270

Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His

275280

<210> 129

<211> 27

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> CD28（寄存號P10747之胺基酸153-179）

<400> 129

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu

151015

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

2025

<210> 130

<211> 66

<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD28 (寄存號P10747之胺基酸114-179)

<400> 130
Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
1 5 10 15
Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
 20 25 30
Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly
 35 40 45
Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe
 50 55 60
Trp Val
65

<210> 131
<211> 41
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD28 (P10747之胺基酸180-220)

<400> 131
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> 132
<211> 41
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD28 (LL至GG)

<400> 132
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> 133
<211> 42
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 4-1BB (Q07011.1之胺基酸214-255)

<400> 133
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> 134
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD3ζ

<400> 134
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> 135
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD3 ζ

<400> 135
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Glu Pro 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> 136
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD3 ζ

<400> 136
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys 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> 137
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> T2A

<400> 137
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> 138
<211> 357
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成

<220>
<223> tEGFR

<400> 138
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	Val	Val	Ala	Leu	Gly				
340						345						350						
Ile	Gly	Leu	Phe	Met														
355																		

申請專利範圍

1. 一種抗CD19抗體或其抗原結合片段，該抗體或抗原結合片段包含重鏈可變(VH)區及輕鏈可變(VL)區，其中：

(a) 該VH區包含含有SEQ ID NO: 18所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區1 (CDR-H1)；含有SEQ ID NO: 19所述之胺基酸序列的CDR-H2；及含有SEQ ID NO: 20所述之胺基酸序列的CDR-H3；及

該VL區包含輕鏈互補決定區1 (CDR-L1)、CDR-L2、及CDR-L3，其分別包含SEQ ID NO: 31、32及33；SEQ ID NO: 25、26及27；SEQ ID NO: 21、22及23；SEQ ID NO: 21、22及24；SEQ ID NO: 28、29及30； 或

(b) 該VH區包含CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，其分別包含SEQ ID NO: 11中所述之VH區胺基酸序列內所含之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3序列的胺基酸序列；及該VL區包含CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3，其分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 13中所述之VL區胺基酸序列內所含之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3序列的胺基酸序列；或

該VH區包含CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，其分別包含SEQ ID NO: 11中所述之VH區胺基酸序列內所含之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3序列的胺基酸序列；及該VL區包含CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3，其分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 14中所述之VL區胺基酸序列內所含之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3序列的胺基酸序列；或

該VH區包含CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，其分別包含SEQ

ID NO: 11中所述之VH區胺基酸序列內所含之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3序列的胺基酸序列；及該VL區包含CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3，其分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16中所述之VL區胺基酸序列內所含之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3序列的胺基酸序列；或

該VH區包含CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，其分別包含SEQ ID NO: 12中所述之VH區胺基酸序列內所含之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3序列的胺基酸序列；及該VL區包含CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3，其分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 15中所述之VL區胺基酸序列內所含之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3序列的胺基酸序列；或

該VH區包含CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3，其分別包含SEQ ID NO: 12中所述之VH區胺基酸序列內所含之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3序列的胺基酸序列；及該VL區包含CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3，其分別包含胺基酸序列SEQ ID NO: 17中所述之VL區胺基酸序列內所含之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3序列的胺基酸序列。

2. 如請求項1之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中：

該抗體或其抗原結合片段之VH區包含SEQ ID NO: 11或12之胺基酸序列；及

該抗體或其抗原結合片段之VL區包含SEQ ID NO: 13、14、15、16或17之胺基酸序列。

3. 如請求項1之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中：

該CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3分別包含SEQ ID NO: 18、19及20所述之序列；及

該CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3分別包含SEQ ID NO: 31、32及33；SEQ ID NO: 25、26及27；SEQ ID NO: 21、22及23；SEQ ID NO: 21、22及24；或SEQ ID NO: 28、29及30所述之序列。

4. 如請求項1之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中：

該抗體或其抗原結合片段之VH及VL區分別包含SEQ ID NO: 12及17之胺基酸序列；

該抗體或其抗原結合片段之VH及VL區分別包含SEQ ID NO: 12及15之胺基酸序列；

該抗體或其抗原結合片段之VH及VL區分別包含SEQ ID NO: 11及13之胺基酸序列；

該抗體或其抗原結合片段之VH及VL區分別包含SEQ ID NO: 11及14之胺基酸序列；或

該抗體或其抗原結合片段之VH及VL區分別包含SEQ ID NO: 11及16之胺基酸序列。

5. 如請求項4之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該抗原結合片段包含scFv。
6. 如請求項1之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該抗體專一性結合至人類CD19。
7. 如請求項6之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該抗體專一性結合至與選自由FMC63及SJ25C1組成之群之參考抗CD19抗體所專一性結合之抗原決定基相同或重疊的CD19抗原決定基；及/或該抗體與選自由FMC63及SJ25C1組成之群的參考抗CD19抗體競爭結合至CD19。
8. 如請求項1之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該抗體對CD19的結合親和力至少為選自由FMC63及SJ25C1組成之群之參

考抗CD19抗體對CD19的結合親和力之80%。

9. 如請求項1之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該抗體對人類CD19的結合親和力(EC50)及/或解離常數為或約為或小於或小於約100 nM、50 nM、40 nM、30 nM、25 nM、20 nM、19 nM、18 nM、17 nM、16 nM、15 nM、14 nM、13 nM、12 nM、11 nM、10 nM、9 nM、8 nM、7 nM、6 nM、5 nM、4 nM、3 nM、2 nM或1 nM。
10. 如請求項1之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段為人類抗體或其抗原結合片段。
11. 如請求項1之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其為單鏈片段。
12. 如請求項11之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其為包含經柔性連接子連接之抗體可變區的片段。
13. 如請求項11之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該抗原結合片段包含scFv。
14. 如請求項13之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該scFv呈VH-VL定向。
15. 如請求項13之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該scFv包含含有SEQ ID NO: 34所述之序列的连接子。
16. 如請求項13之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該scFv包含SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87及89中任一者所述之胺基酸序列。
17. 如請求項13之抗CD19抗體或其抗原結合片段，其中該scFv包含SEQ ID NO: 2、4、6、8及10中任一者所述之胺基酸序列。
18. 一種結合物，其包含如請求項1至17中任一項之抗CD19抗體或其抗原結合片段及選自由細胞毒性劑、成像劑、可偵測部分、多

聚合域組成之群之異源分子或部分。

19. 一種嵌合抗原受體(CAR)，其包含含有如請求項1至17中任一項之抗CD19抗體或其抗原結合片段的細胞外部分及細胞內信號傳導域。
20. 如請求項19之嵌合抗原受體，其中含有該抗CD19抗體或其抗原結合片段的細胞外部分包含scFv且該細胞內信號傳導域包含ITAM。
21. 如請求項20之嵌合抗原受體，其中該細胞內信號傳導域包含CD3- ξ 鏈的信號傳導域。
22. 如請求項19之嵌合抗原受體，其進一步包含該胞外域及該細胞內信號傳導域之間的跨膜域。
23. 如請求項22之嵌合抗原受體，其中該跨膜域包含CD28之跨膜部分。
24. 如請求項19之嵌合抗原受體，其進一步包含T細胞共刺激分子之細胞內信號傳導域。
25. 如請求項24之嵌合抗原受體，其中該T細胞共刺激分子係選自由CD28及41BB組成之群。
26. 一種嵌合抗原受體(CAR)，其包含含有如請求項1至17中任一項之抗CD19抗體或其抗原結合片段的細胞外域；含有CD3 ξ 鏈之信號傳導域的細胞內信號傳導域；在該細胞外域及該含有CD3 ξ 鏈之信號傳導域的細胞內信號傳導域之間的跨膜域；以及T細胞共刺激分子之細胞內信號傳導域。
27. 如請求項26之嵌合抗原受體，其中該T細胞共刺激分子係選自由CD28及41BB組成之群。
28. 一種核酸，其編碼如請求項1至17中任一項之抗CD19抗體或其抗

原結合片段、如請求項18之結合物或如請求項19至27中任一項之嵌合抗原受體。

29. 一種經工程改造之細胞，其表現包含如請求項1至17中任一項之抗CD19抗體或其抗原結合片段的受體或如請求項19至27中任一項之嵌合抗原受體。
30. 如請求項29之經工程改造之細胞，其中該經工程改造之細胞為T細胞。
31. 一種組合物，其包含如請求項1至17中任一項之抗CD19抗體或其抗原結合片段、如請求項18之結合物或如請求項29或30之經工程改造之細胞。
32. 如請求項31之組合物，其進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑。
33. 如請求項31或32之組合物，其用於治療與CD19相關的疾病或病症。
34. 如請求項33之組合物，其中該疾病或病症為B細胞惡性疾病。
35. 如請求項34之組合物，其中該B細胞惡性疾病係選自由以下組成之群：B細胞慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)、前淋巴細胞性白血病、毛細胞白血病、常見急性淋巴細胞性白血病、空標記急性淋巴母細胞性白血病、非霍奇金氏淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、多發性骨髓瘤、濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、惰性B細胞淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤。
36. 一種如請求項32之組合物的用途，係用於製造供治療與CD19相關之疾病或病症用的藥物。
37. 如請求項36之用途，其中該疾病或病症為B細胞惡性疾病。

38. 如請求項36或37之用途，其中該B細胞惡性疾病係選自由以下組成之群：B細胞慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)、前淋巴細胞性白血病、毛細胞白血病、常見急性淋巴細胞性白血病、空標記急性淋巴母細胞性白血病、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin lymphomas)、彌漫性大B細胞淋巴瘤(DLBCL)、多發性骨髓瘤、濾泡性淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、惰性B細胞淋巴瘤及霍奇金氏淋巴瘤。

圖式

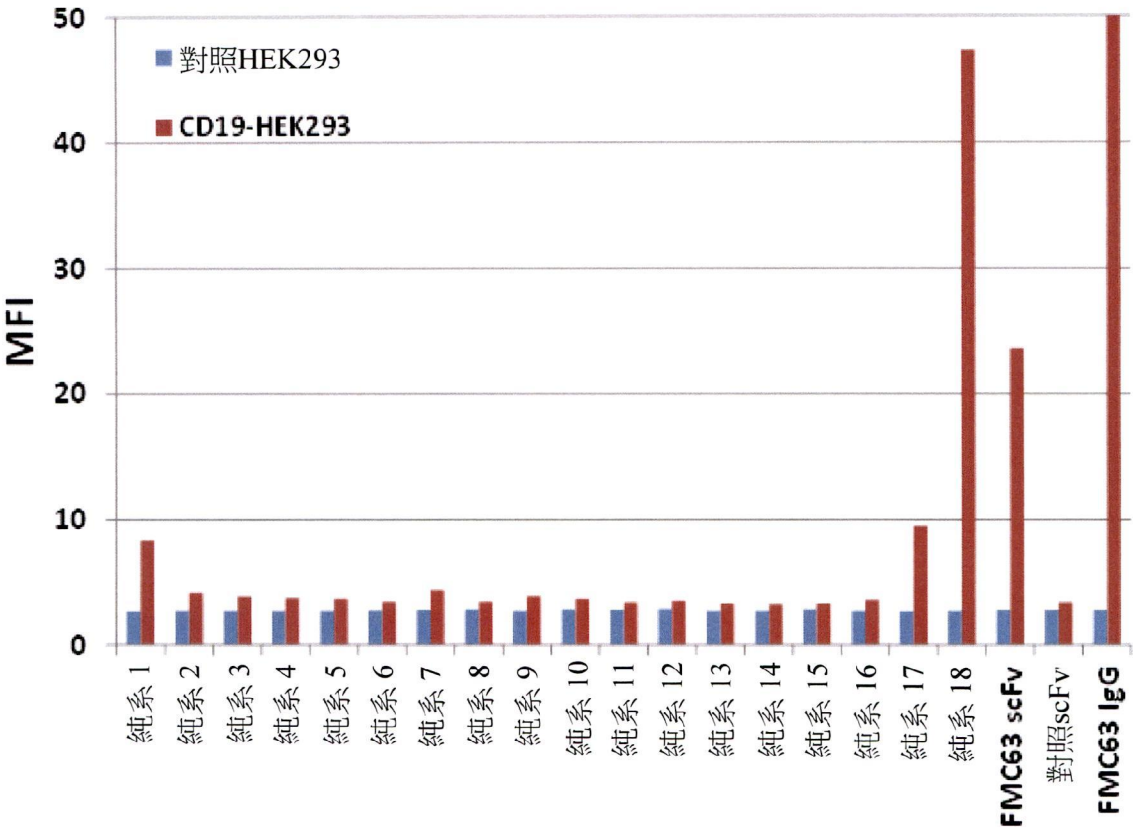


圖1A

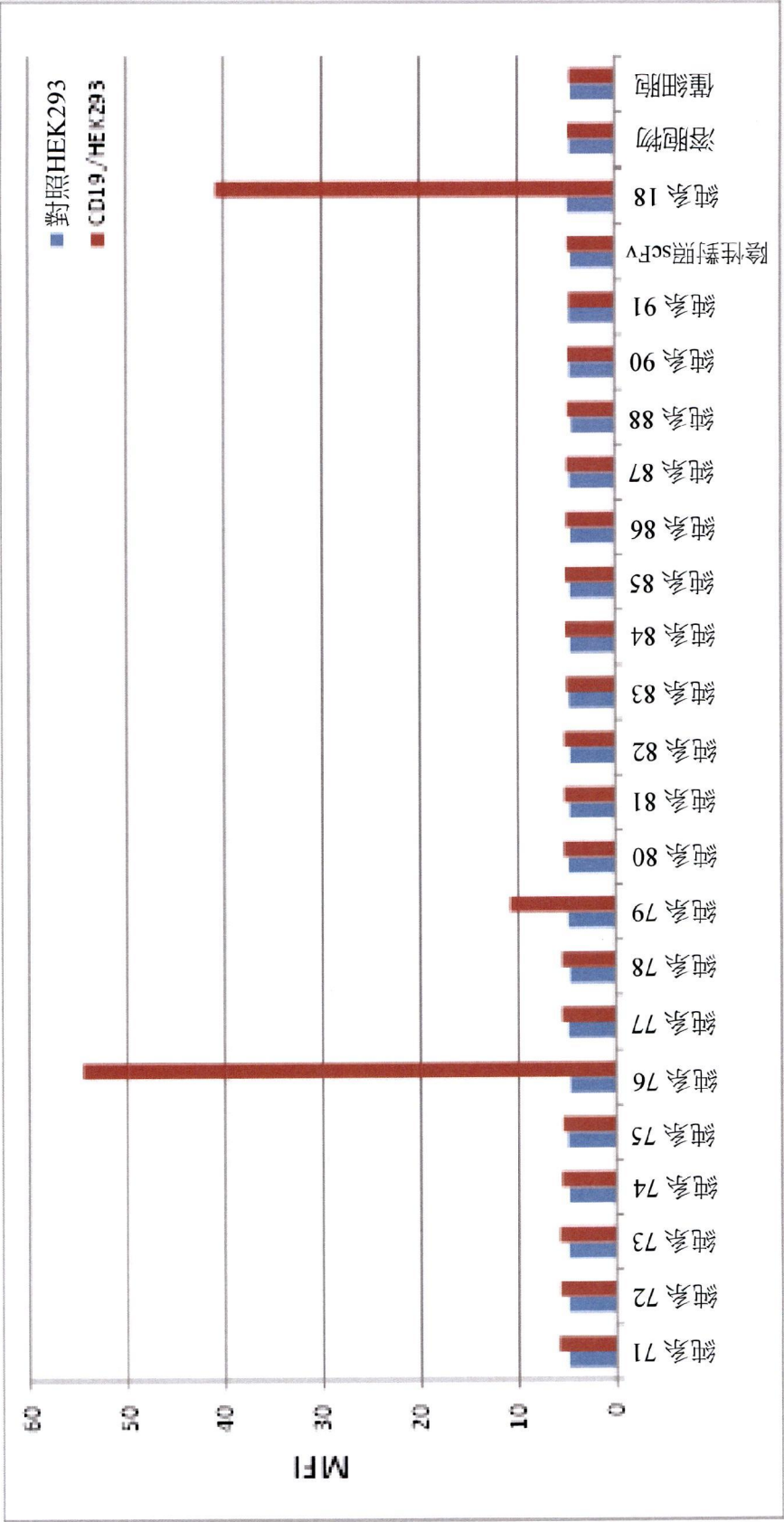


圖1B

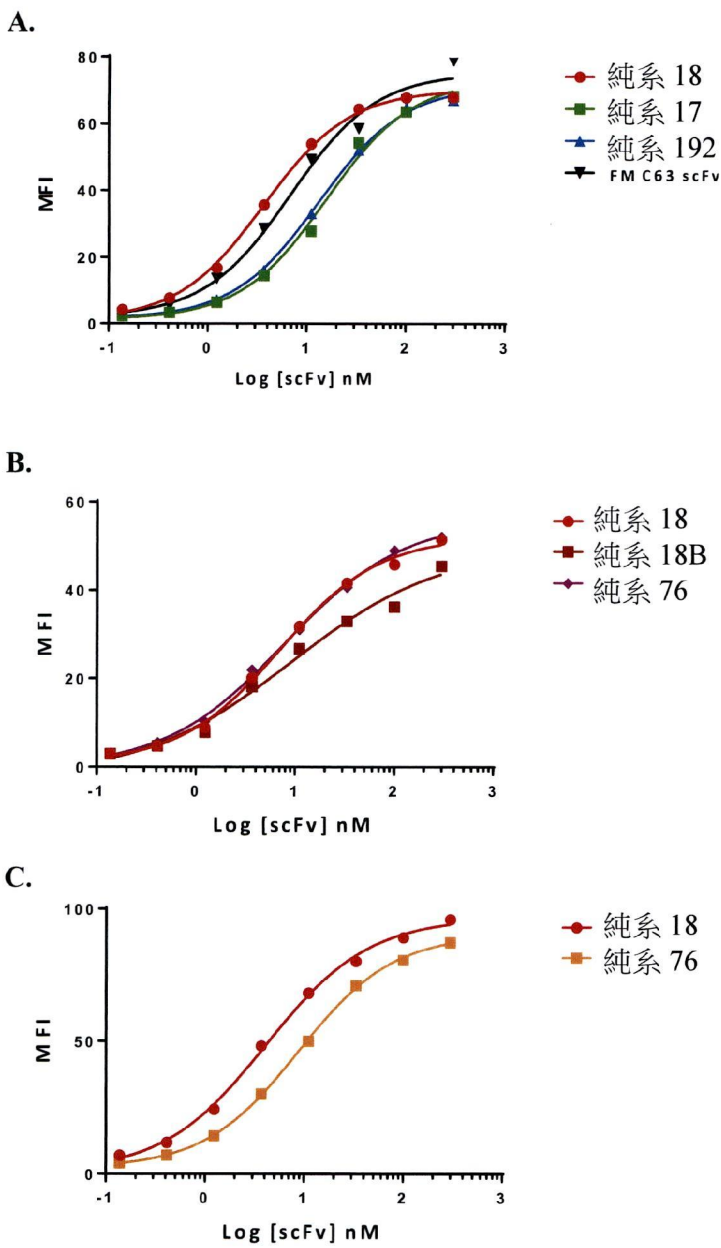


圖3

5

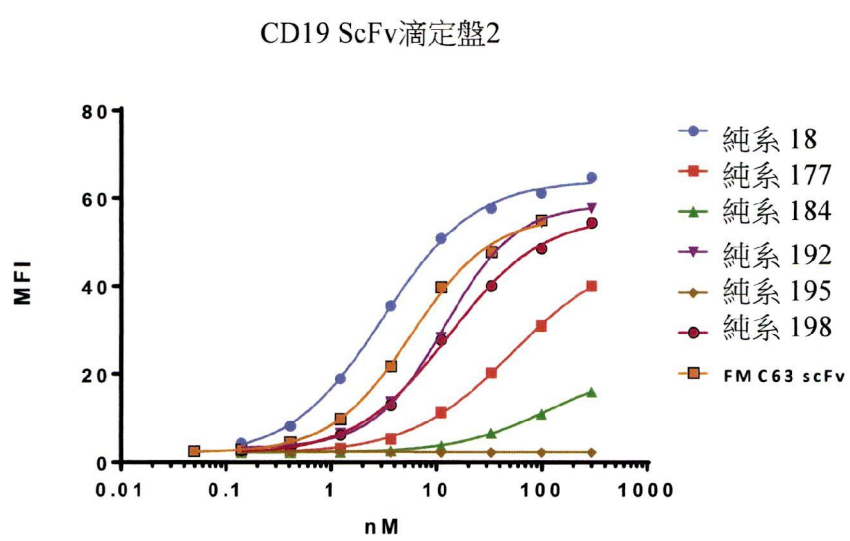
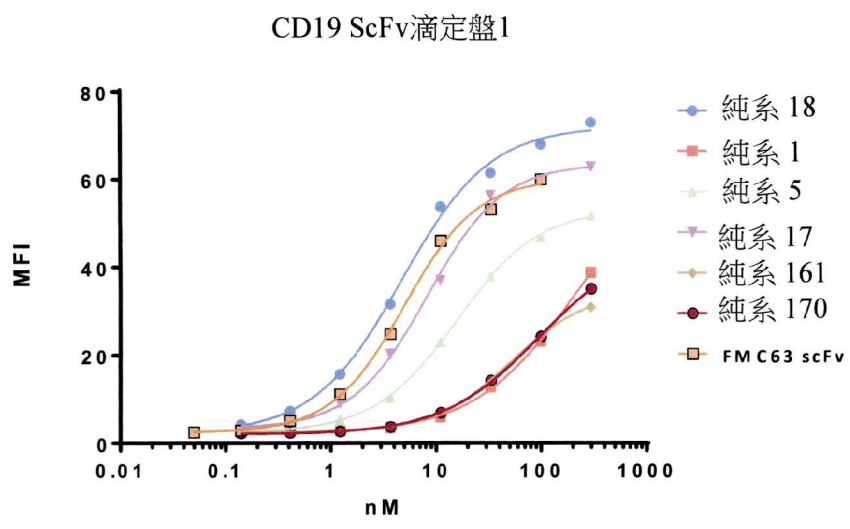
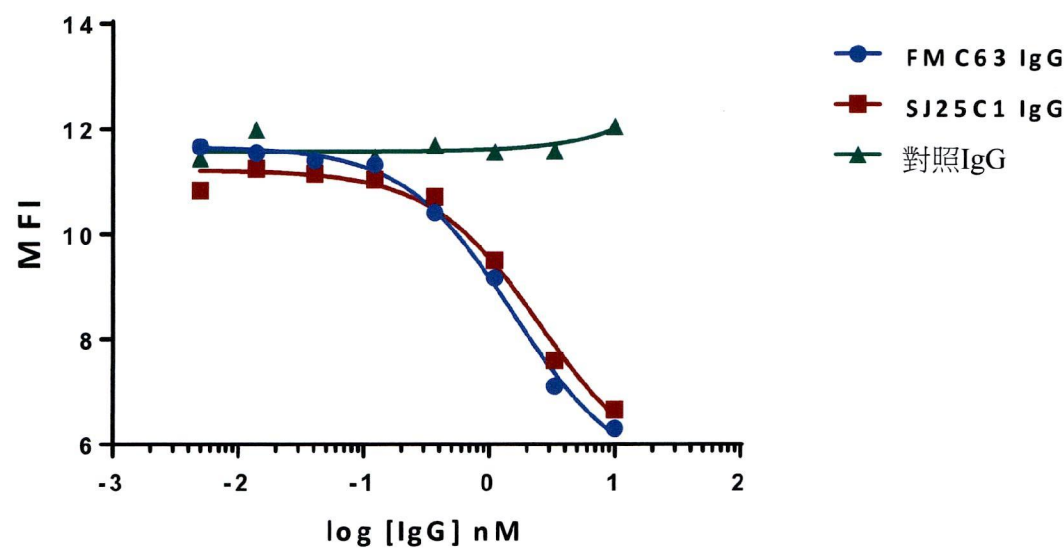


圖4

A.



B.

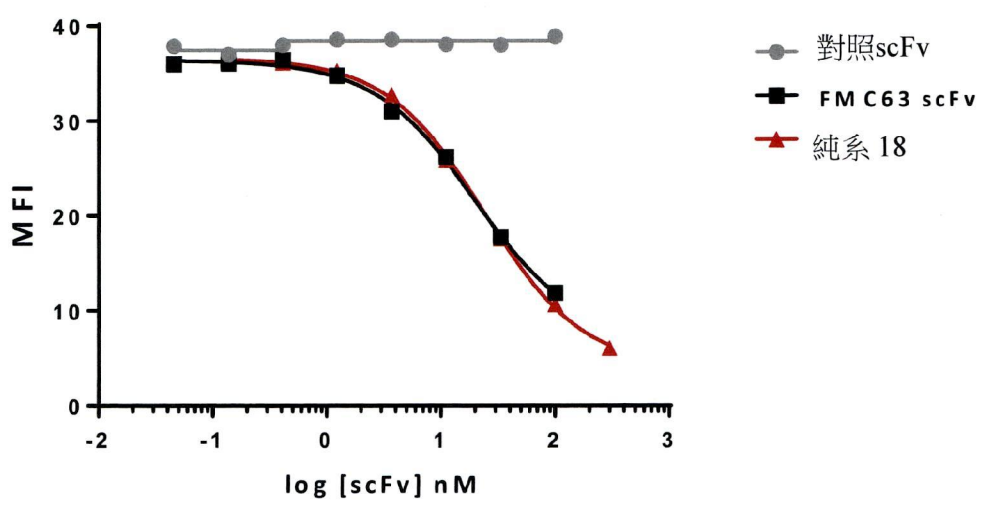


圖5

S

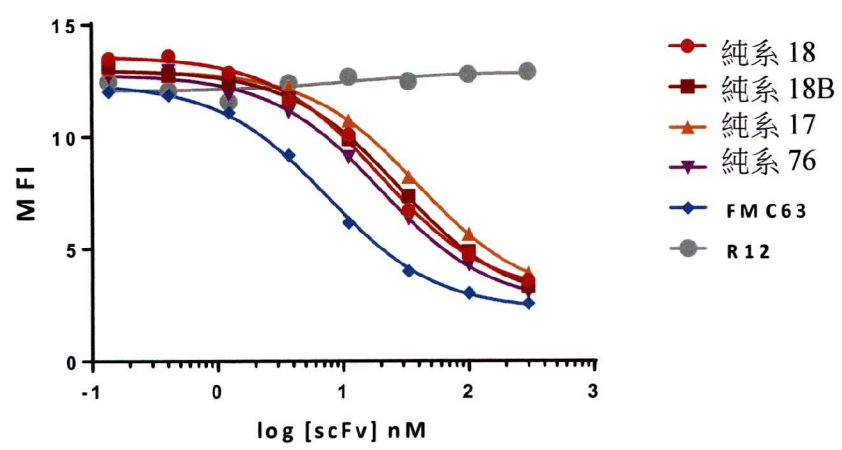
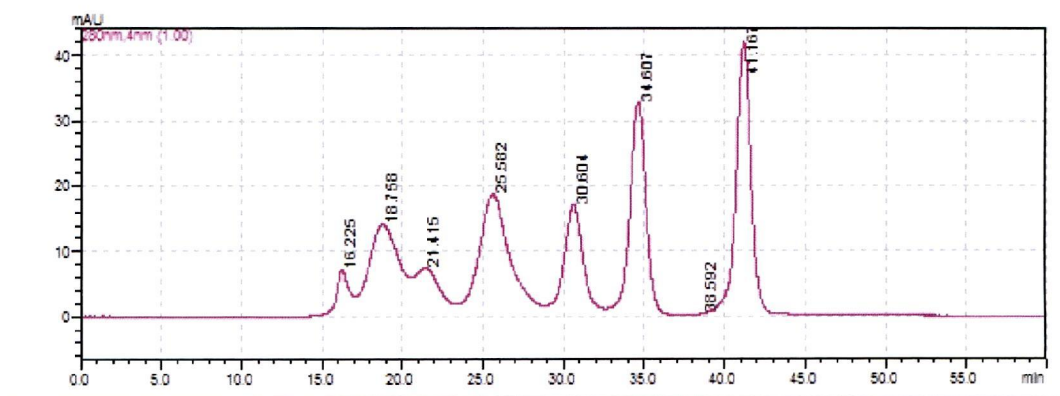


圖6

A.



B.

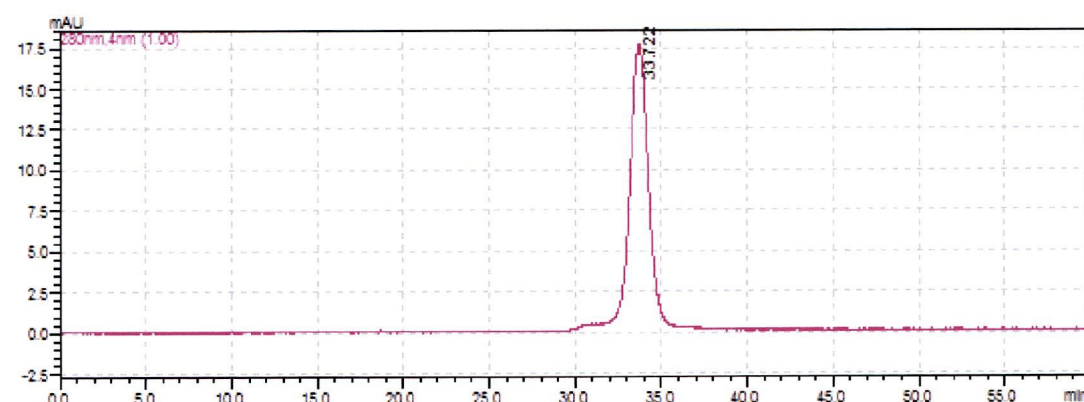
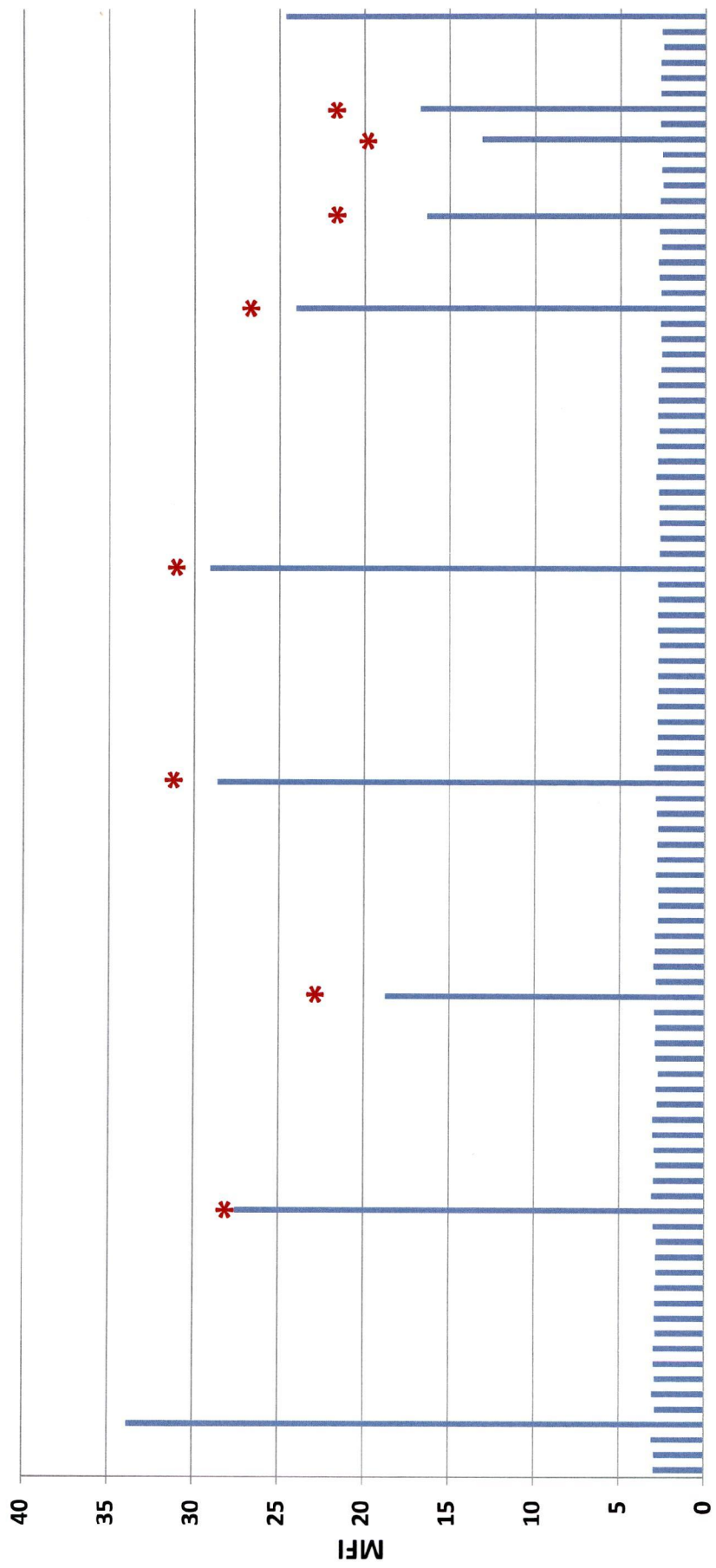


圖7



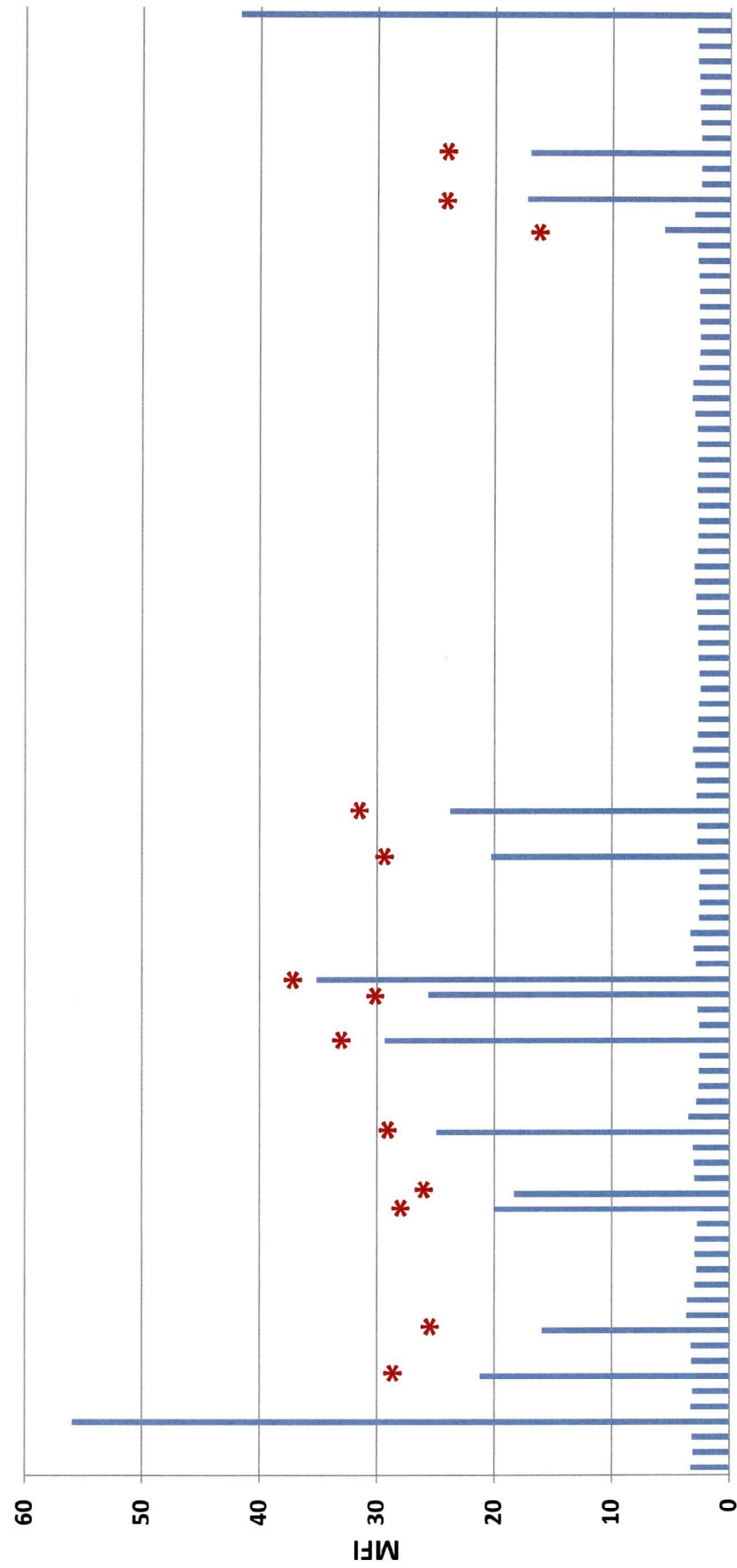


圖 8B

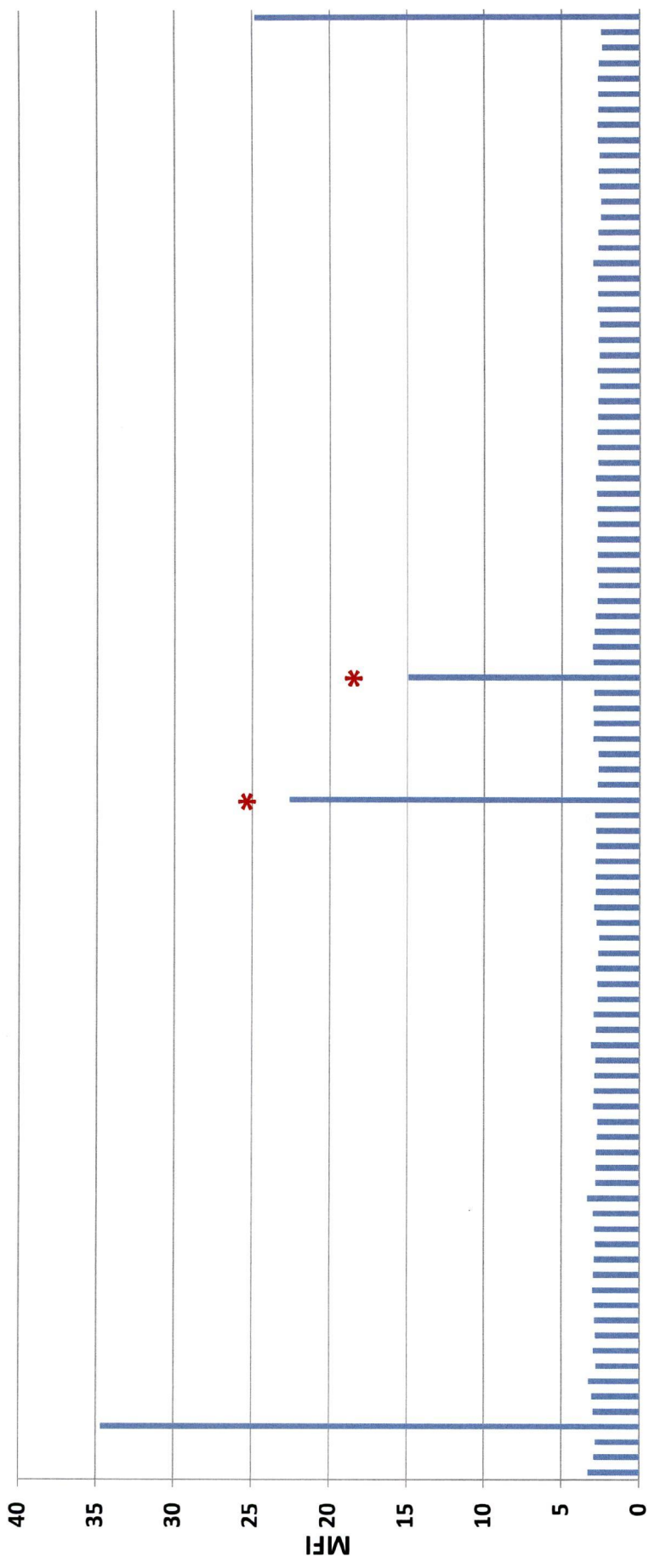
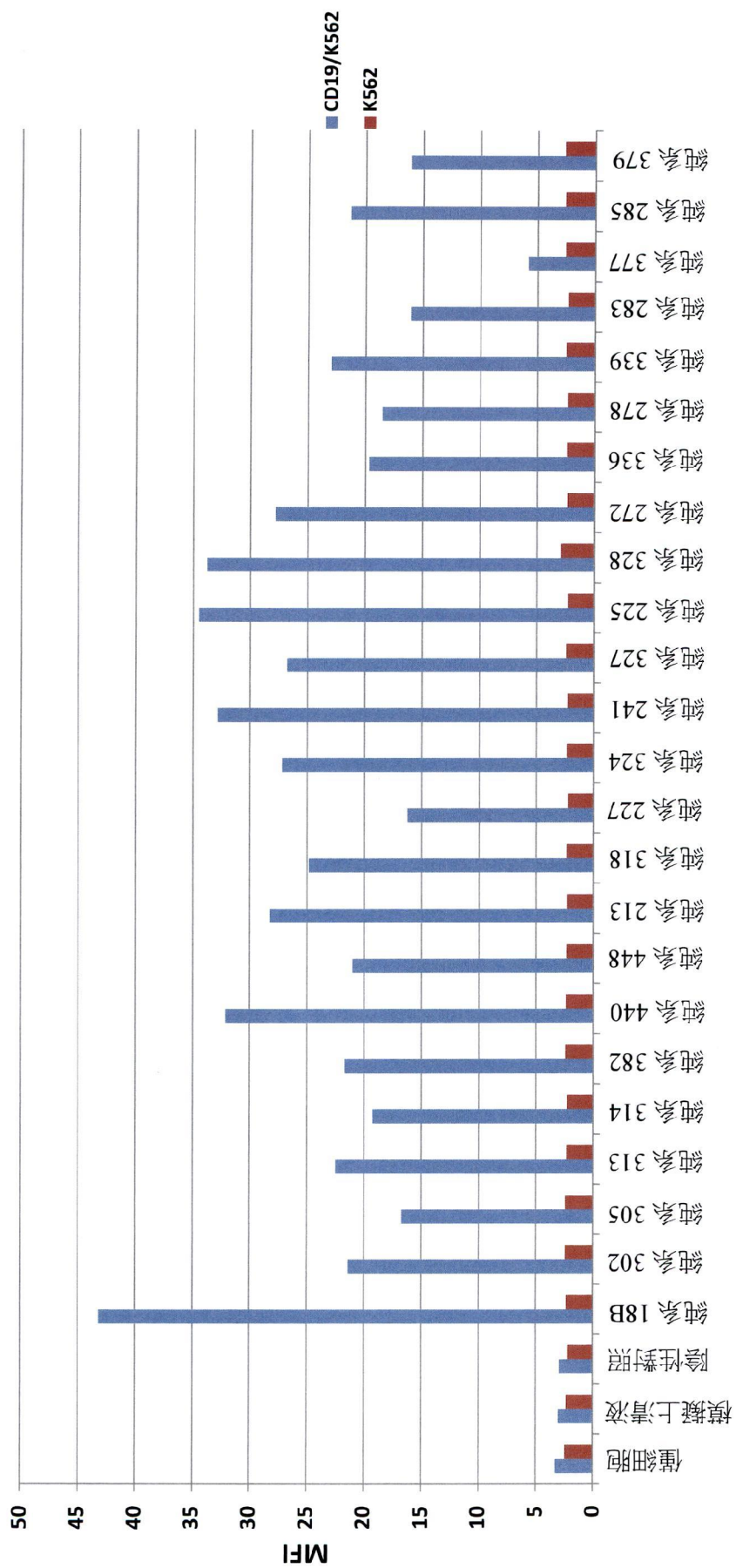


圖8C

圖8D



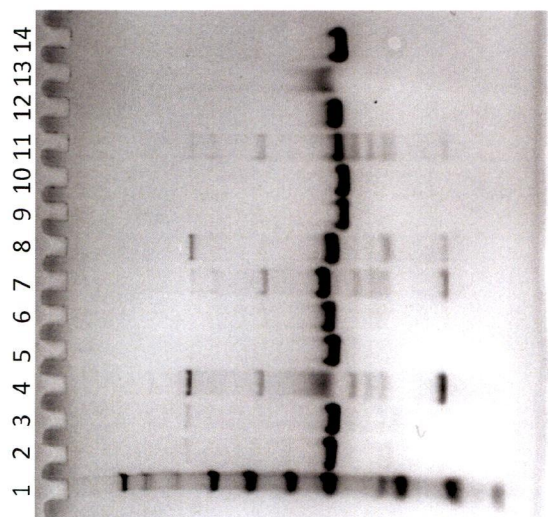


图9

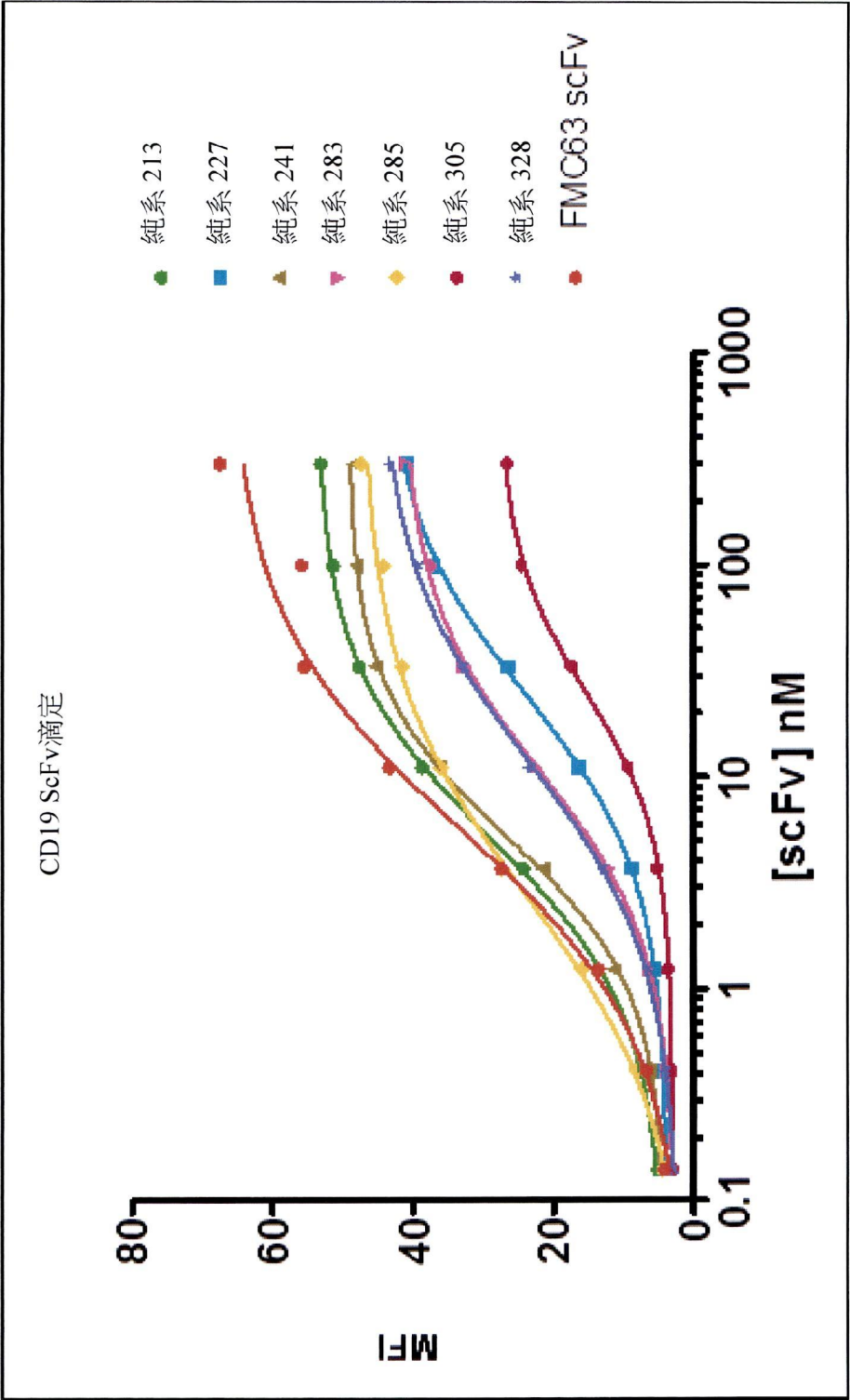


圖10A



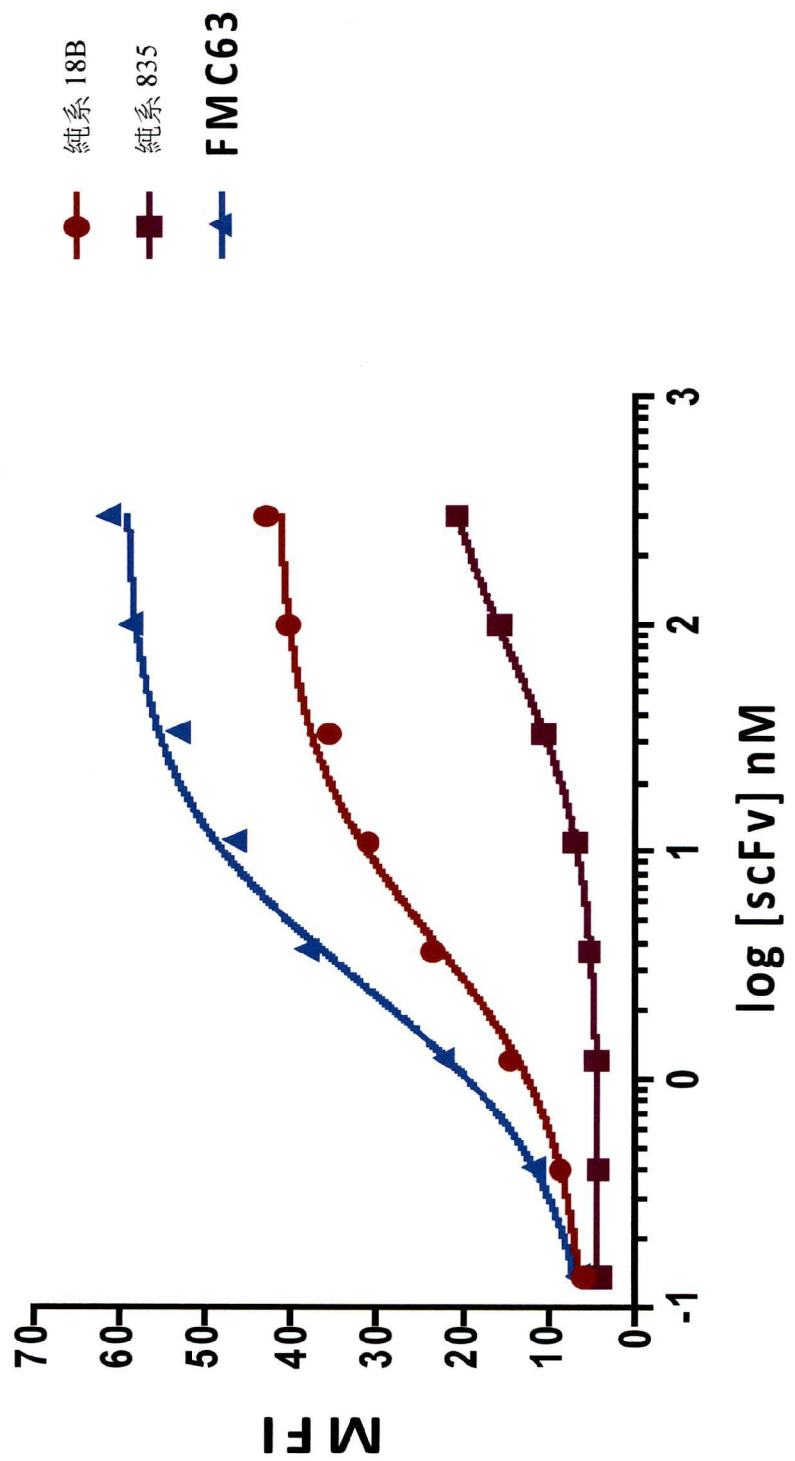


図10B

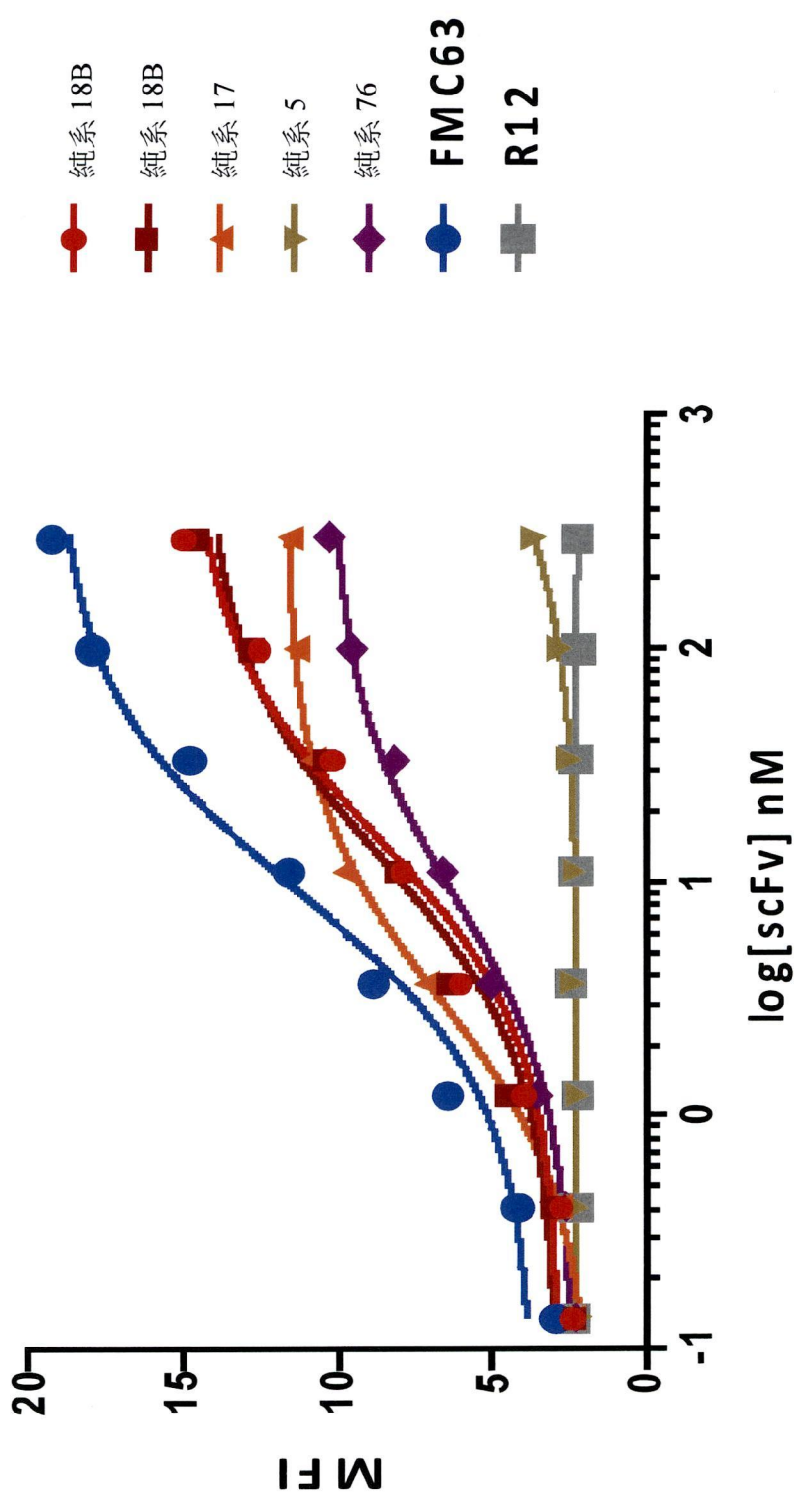


圖10C

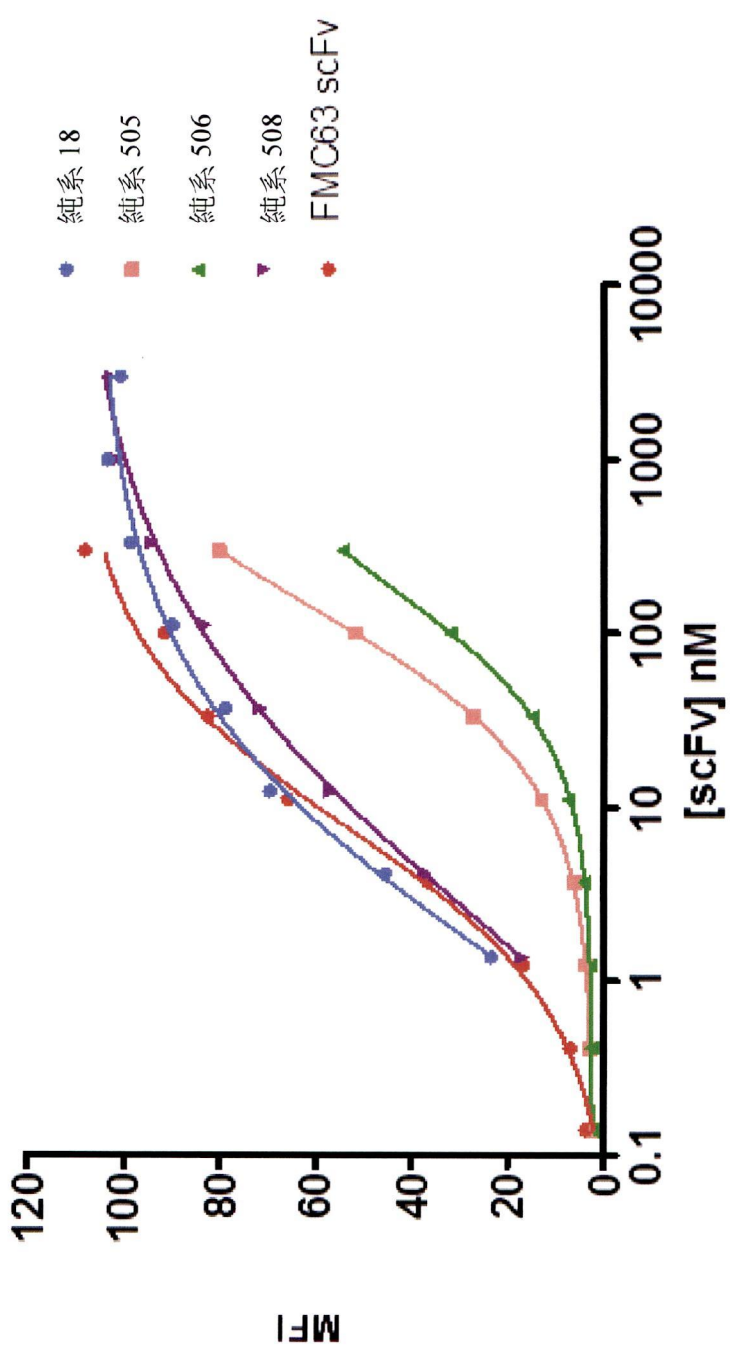


圖10D

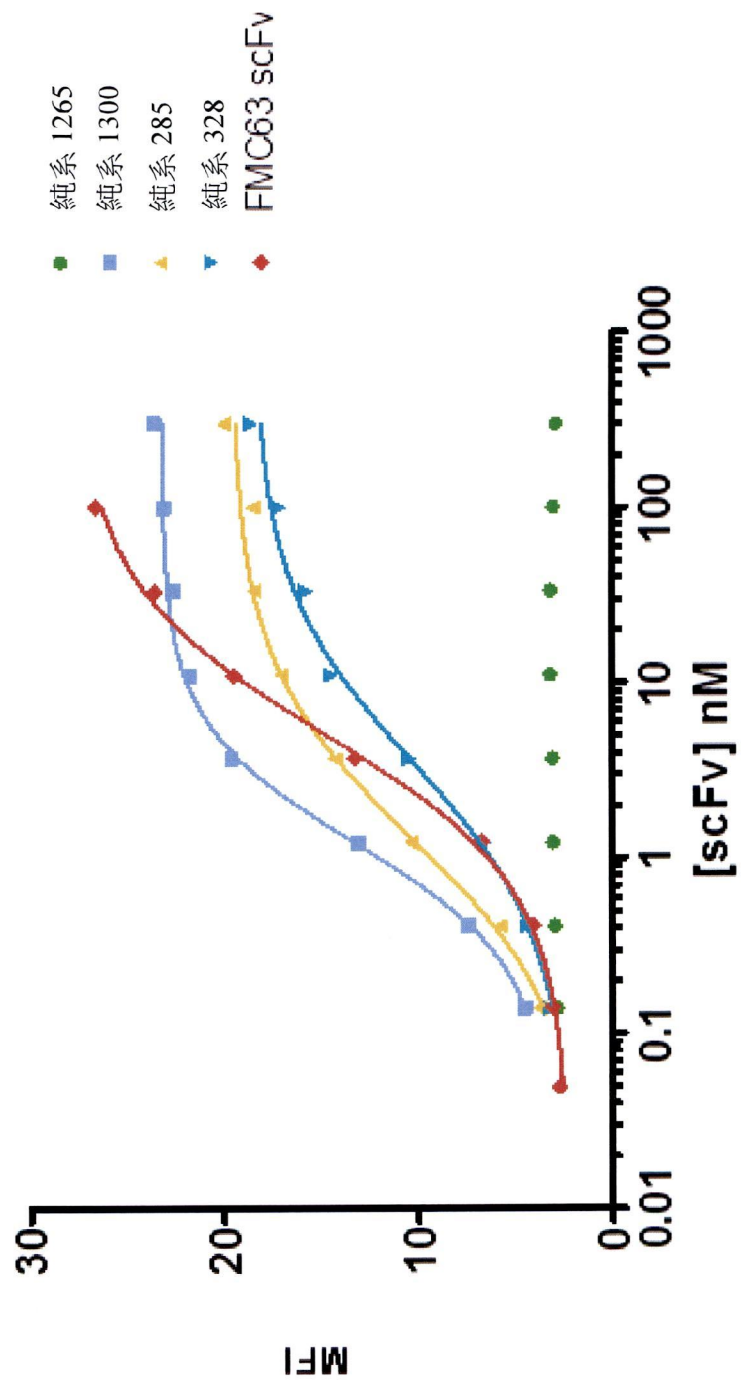


圖10E

CD19 scFv:FMC63競爭型滴定

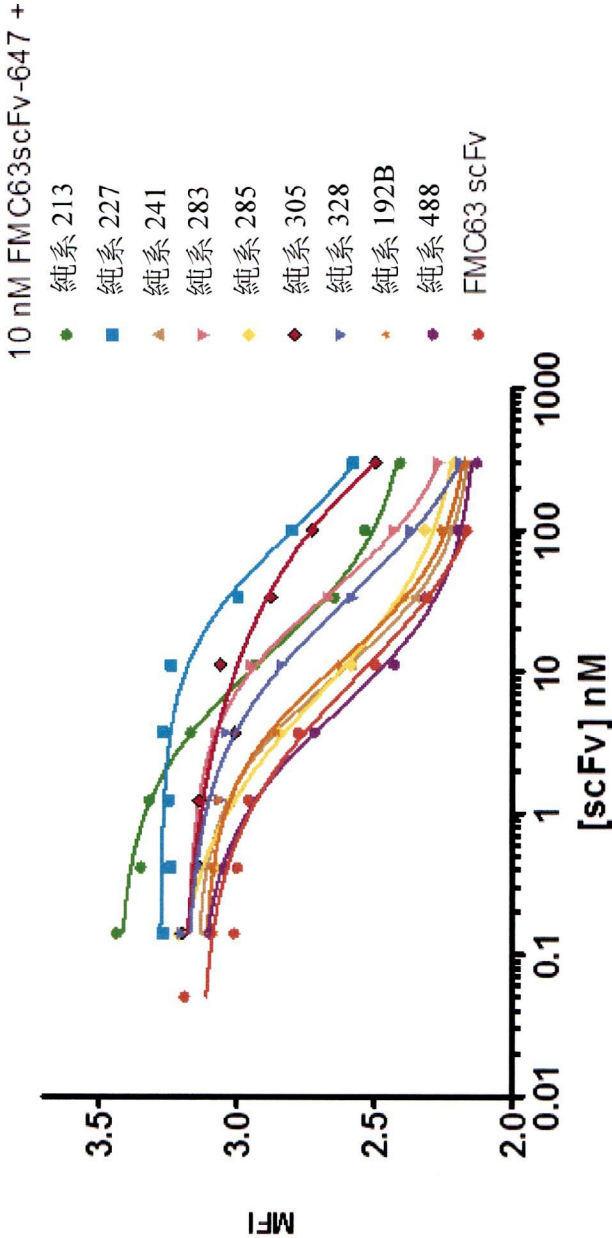


圖11

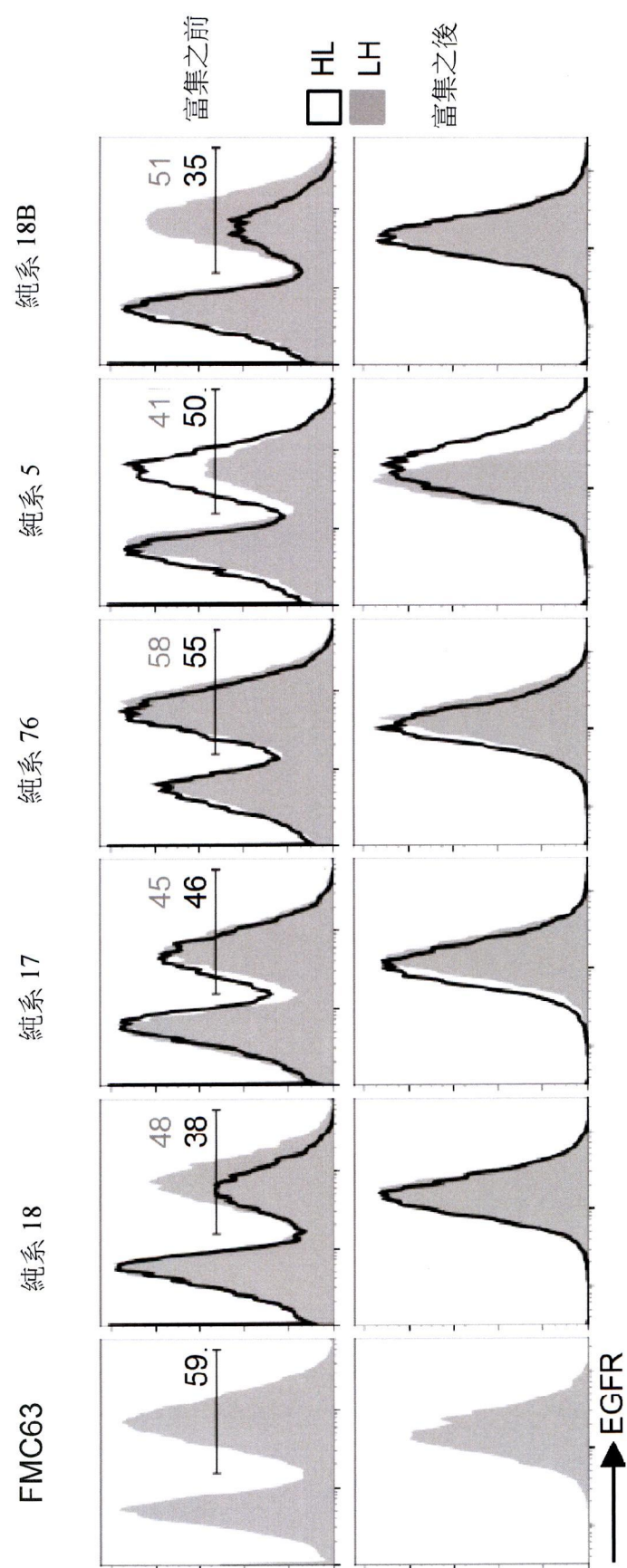


圖 12A

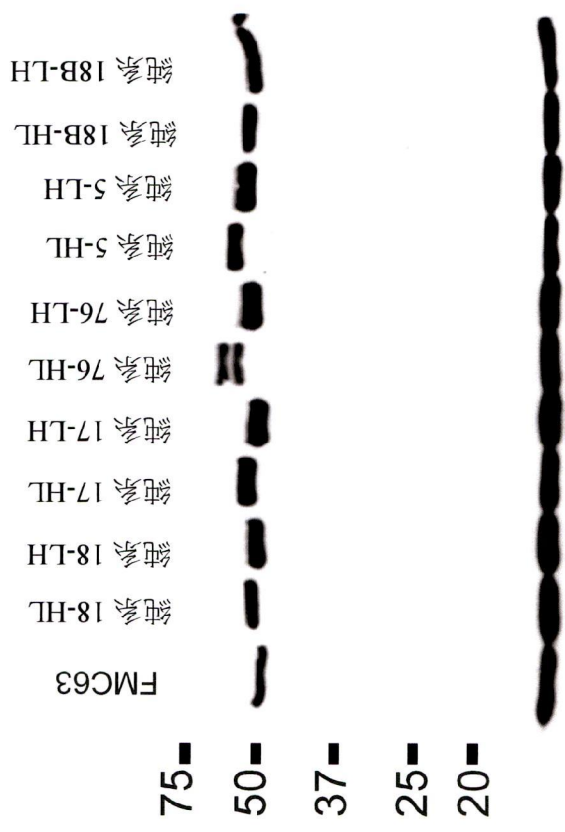


圖12B

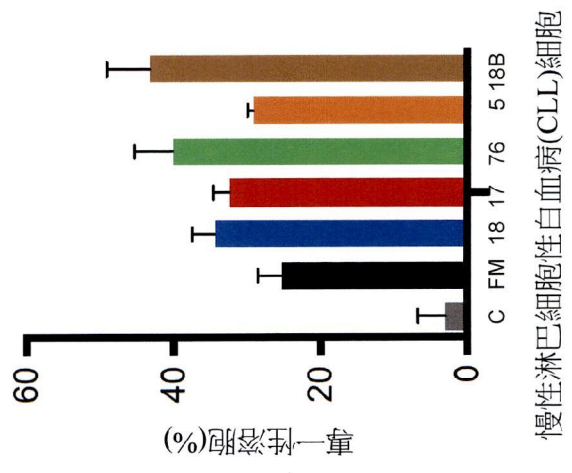
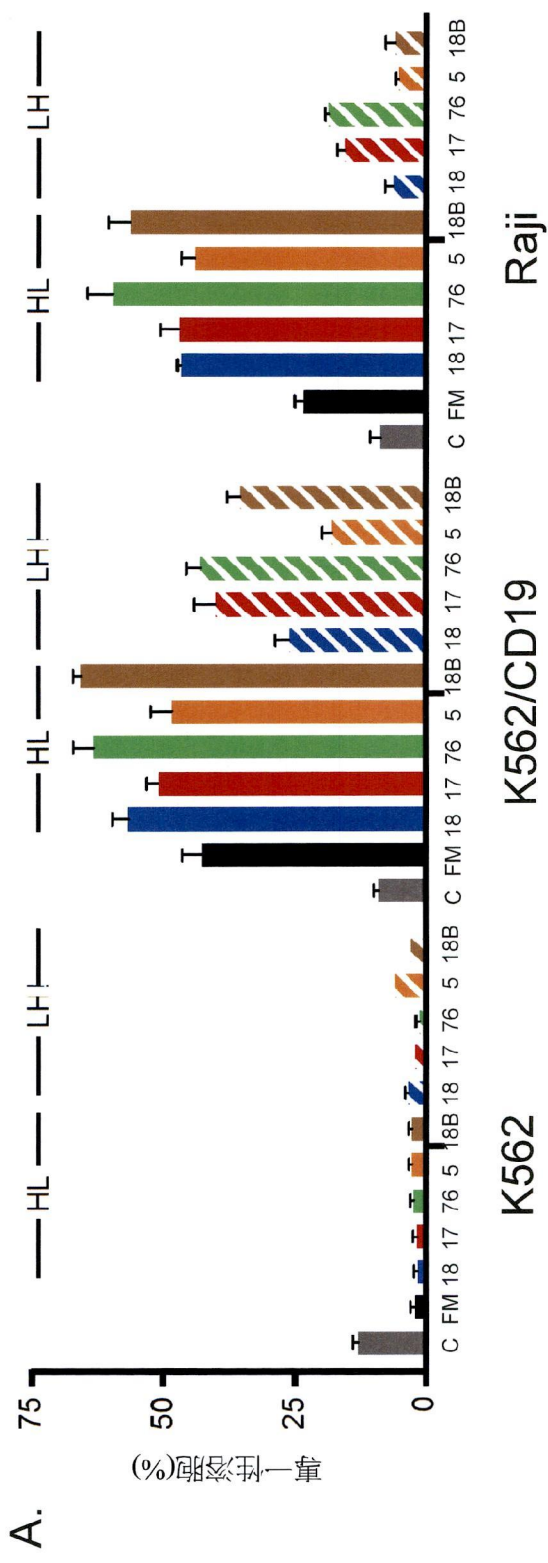
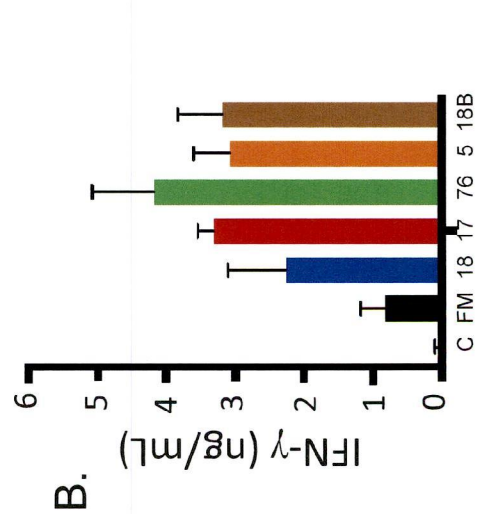


圖13



14

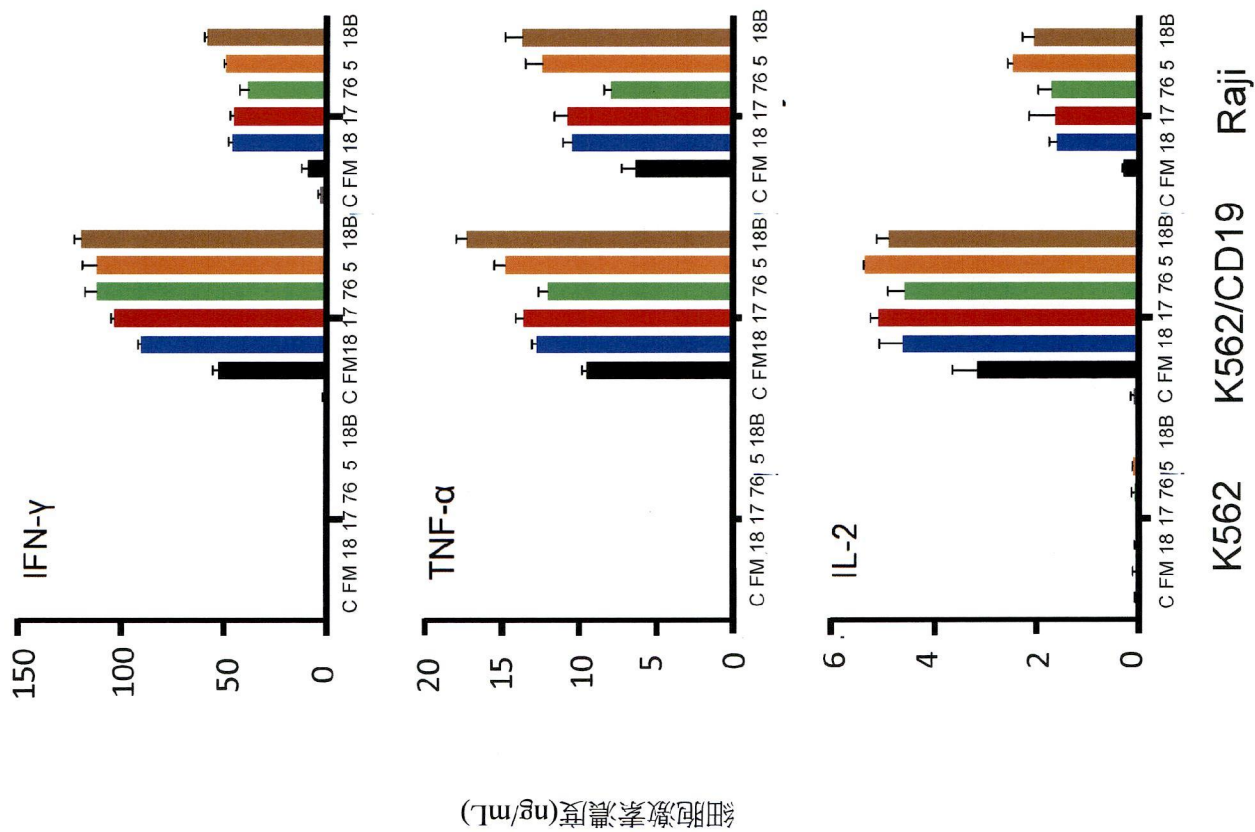


圖15

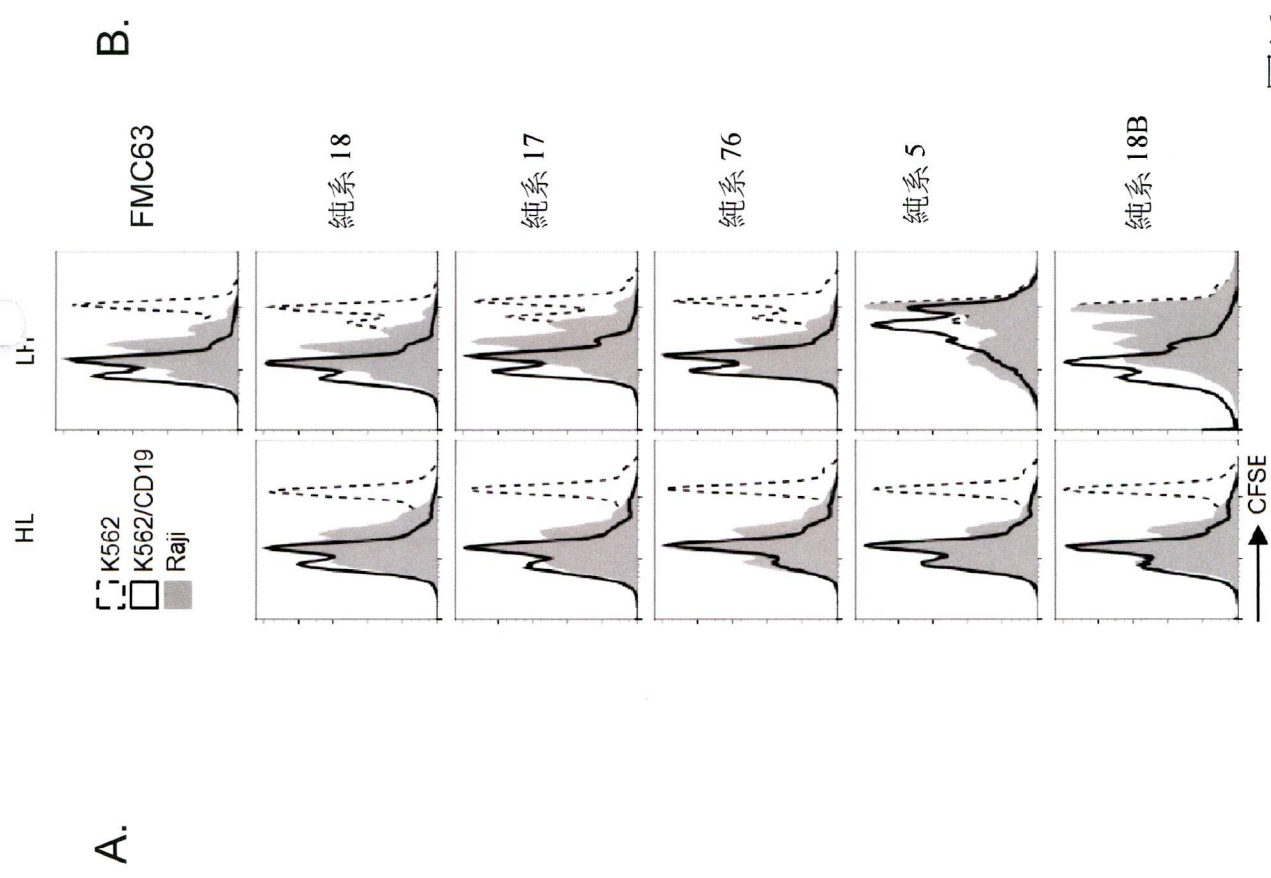
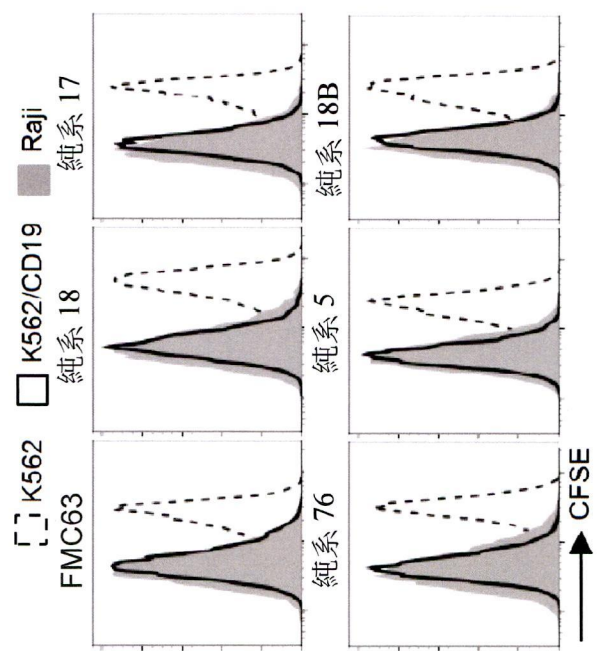


圖16



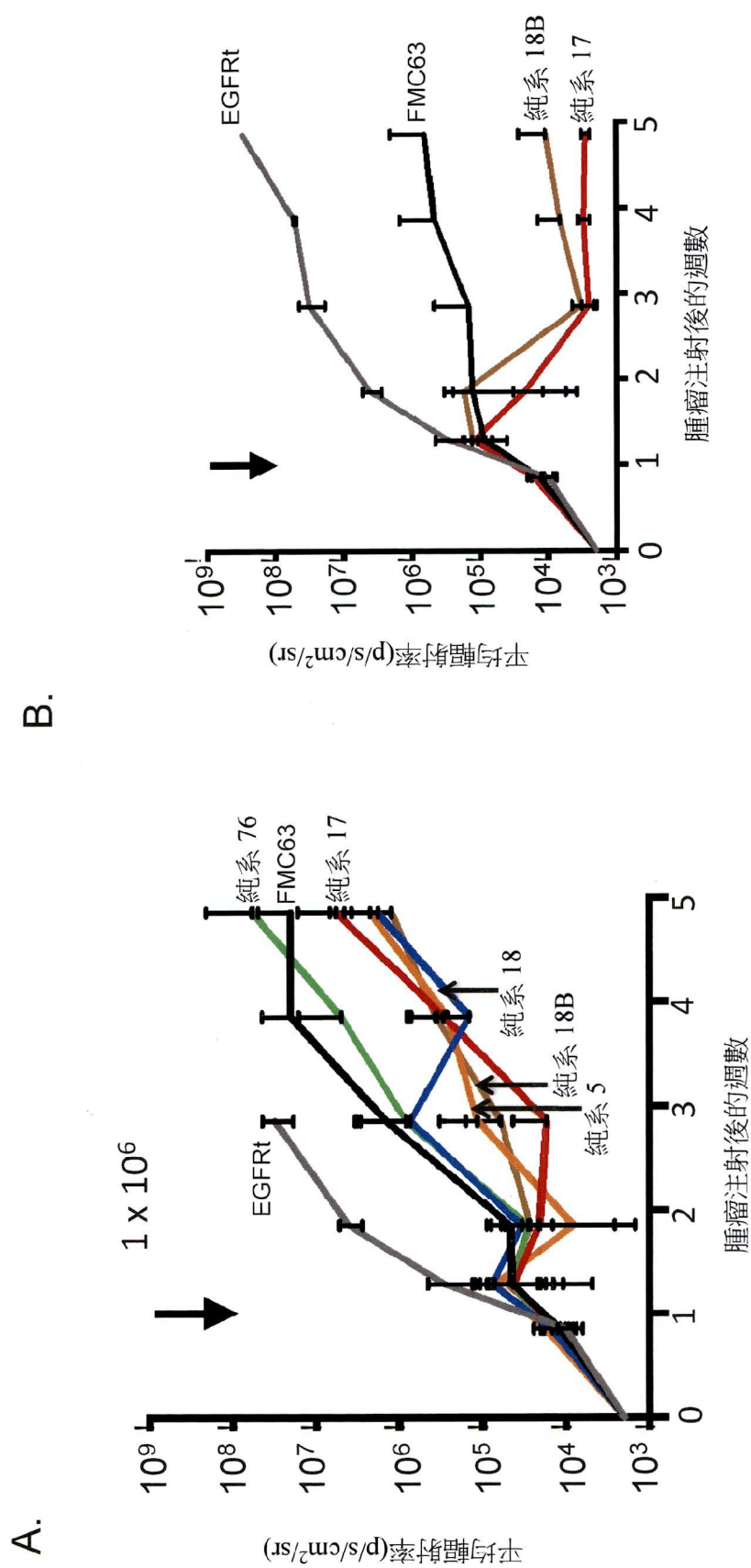


圖17