(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 114364801 B
(45)授权公告日 2024.04.19

(21)申请号 202080055307.5

(22)申请日 2020.05.29

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114364801 A

(43)申请公布日 2022.04.15

(30)优先权数据
62/854,574 2019.05.30 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.01.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/035287 2020.05.29

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/243546 EN 2020.12.03

(73)专利权人 莱蒂恩技术公司
地址 美国马里兰州

(72)发明人 迪娜·施奈德 朱忠玉
博罗·德罗普利奇 庞·科·武
利亚·玛丽·阿拉班扎

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
专利代理师 张福誉 韩晓帆

(51)Int.Cl.
C12N 15/62(2006.01)
C07K 19/00(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)
A61K 39/00(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)

(56)对比文件
US 2016/0297884 A1,2016.10.13
US 2017/0183418 A1,2017.06.29
De-Xiu BuDENG .Pre-clinical validation of B cell maturation antigen (BCMA) as a target for T cell immunotherapy of multiple myeloma.《Oncotarget》.2018,第9卷(第40期),第25766页右栏第1段,第25767页右栏第1段,图3D.
Eric等.Development and Evaluation of an Optimal Human Single-Chain Variable Fragment-Derived BCMA-Targeted CAR T Cell Vector.《Molecular Therapy》.第26卷(第6期),参见对比文件2第1448页右栏第3段,附件信息,图3-图4.

审查员 张锦广

权利要求书1页 说明书84页
序列表67页 附图20页

(54)发明名称

用于用抗BCMA免疫治疗来治疗癌症的组合物和方法

(57)摘要

公开了包含BCMA抗原结合结构域的嵌合抗原受体。还公开了涉及所述嵌合抗原受体的核酸、重组表达载体、宿主细胞、抗原结合片段和药物组合物。还公开了在对象中治疗或预防癌症的方法、以及制备嵌合抗原受体T细胞的方法。

CN 114364801 B

1.包含抗肿瘤有效量的T细胞群的药物组合物在制备用于在有需要的人对象中治疗表达BCMA的多发性骨髓瘤的药物中的用途,其中所述药物配制成用于向所述人对象施用所述药物组合物,其中所述T细胞群中的每个细胞包含编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸分子,其中所述CAR包含至少一个胞外抗原结合结构域、至少一个接头或至少一个间隔区结构域、至少一个跨膜结构域、至少一个胞内信号传导结构域,所述胞外抗原结合结构域包含SEQ ID NO:78所示氨基酸序列的BCMA抗原结合结构域,其中所述核酸包含与CAR编码序列有效连接的启动子,并且从而治疗所述人对象的表达BCMA的多发性骨髓瘤。

2.权利要求1所述的用途,其中所述至少一个跨膜结构域包含选自以下的蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体(TCR)α链、TCRβ链、TCRζ链、CD8、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154。

3.权利要求1所述的用途,其中包含所述BCMA抗原结合结构域的至少一个胞外抗原结合结构域、所述至少一个胞内信号传导结构域或这二者通过所述至少一个接头或所述至少一个间隔区结构域与所述至少一个跨膜结构域连接。

4.权利要求1所述的用途,其中所述至少一个接头或所述至少一个间隔区结构域由CD8、TNFRSF19或CD28的胞外结构域获得,并且与所述至少一个跨膜结构域连接。

5.权利要求1所述的用途,其中包含所述BCMA抗原结合结构域的至少一个胞外抗原结合结构域之前是编码前导肽的前导核苷酸序列。

6.权利要求1所述的用途,其中所述至少一个胞内信号传导结构域还包含CD3ζ胞内结构域。

7.权利要求1所述的用途,其中编码所述BCMA抗原结合结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:77或105所示核酸序列。

8.权利要求1所述的用途,其中所述至少一个胞内信号传导结构域包含共刺激结构域、初级信号传导结构域,或其任意组合。

9.权利要求8所述的用途,其中所述共刺激结构域包含选自以下的功能性信号传导结构域:OX40、CD70、CD27、CD28、CD5、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)、DAP10、DAP12和4-1BB(CD137)。

用于用抗BCMA免疫治疗来治疗癌症的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2019年5月30日提交的美国临时专利申请序列号62/854,574的优先权,其全部内容通过引用在此并入。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含已经以ASCII格式电子提交并且在此通过引用整体并入的序列表。所述ASCII拷贝创建于2020年5月28日,被命名为Sequence_Listing.txt并且大小为146千字节。

技术领域

[0005] 本申请涉及癌症领域,特别地涉及B细胞成熟抗原(B-cell maturation antigen,BCMA)抗原结合结构域和包含这样的BCMA抗原结合结构域的嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor,CAR)及其使用方法。

背景技术

[0006] 癌症是对人健康最致命的威胁之一。仅在美国,癌症每年就影响近130万新患者,并且是继心血管疾病之后的第二大死因,占死亡的约四分之一。实体瘤是造成这些死亡中的大多数的原因。尽管在某些癌症的医学治疗方面有显著的进展,但是在过去20年里,所有癌症的总体5年存活率仅提高了约10%。癌症或恶性肿瘤以不受控制的方式转移和迅速生长,这使治疗极为困难。

[0007] 多发性骨髓瘤(multiple myeloma,MM)是美国(继非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)之后)第二大普遍的血液癌,总体5年存活率为约50%,而基因异常的类型决定了MM的侵袭性,并且诊断时较大的年龄、较高的疾病阶段和转移性疾病与较低的存活机会有关(www.cancer.net)。

[0008] MM是多器官疾病。在MM中,骨髓中浆细胞的过度生长导致正常造血减弱,导致贫血、血小板减少和对感染的易感性。骨髓瘤细胞促进通过破骨细胞的骨吸收,导致骨痛、骨质丢失、骨质疏松、碎片化(fraction)和血钙升高。骨髓瘤细胞分泌高水平的单克隆免疫球蛋白导致肾损伤和肾功能受损。另外,椎骨骨折可造成神经通路压力升高,引起神经系统症状、麻木刺痛、疼痛、肌无力。MM在黑人中的患病率是白人的两倍,并且男性略多,中位发作年龄为66岁(Landgren O等,Leukemia;Kyle RA等,Mayo Clin Proc.2003)。导致MM的早期异常被称为意义未明的单克隆丙种球蛋白病(monoclonal gammopathy of undetermined significance,MGUS),其是存在于3%至4%的普通群体中的无症状疾病,这使得在晚年发展为MM的风险每年提高1%(Kyle R.A等,N Engl J Med.2002 346.8(2002):564-569;Landgren O.,等,Blood.2009 May 28;113(22):5412-7)。导致发展为MM的中间阶段病症是郁积性多发性骨髓瘤(smoldering multiple myeloma,SMM),其与进展为MM的10%的更高风险相关(Kyle R.A等,N Engl J Med.356.25(2007):2582-2590)。

[0009] MM的一线治疗包括组合方案,通常是由沙利度胺(thalidomide)、硼替佐米

(bortezomib)和来那度胺(lenalidomide)组成的组合治疗,并且在一些情况下是卡非佐米(carfilzomib)、泊马度胺(pomalidomide)和帕比司他(panobinostat)。然而,这些药物中的每一种都携带毒性风险。例如,在一项MM研究中,来那度胺和地塞米松的组合与在入组该研究的几乎所有患者中的garage 3+毒性以及早期死亡率和静脉栓塞相关(Blood 105:4050-4053,2005)。此外,虚弱或老年患者可能无法耐受三联治疗方案(triple regiment),降低了成功治疗的机会。对于这样的患者,需要替代的治疗方法。在符合条件的患者中,实施了与自体干细胞移植组合的高剂量化学治疗(Attal M.等,N Engl J Med.1996;Child J.A.等,N Engl J Med.2003)。在一些情况下,施用串联ASCT,旨在提高存活机会(Krishnan A等,Lancet Oncol.2011;Fermand J等,Hematol J.2003;4(Suppl 1):S59)。然而,该方法与另外的成本、医疗风险和患者的不适相关。然而,如果患者不符合ASCT的条件,在目前可用的治疗选择下,他们的康复机会很低。

[0010] 复发性或难治性MM的治疗巩固和管理涉及药物组合,例如来那度胺、泊马度胺、环磷酰胺、泼尼松龙,其携带治疗相关毒性的风险并且不是治愈性的。

[0011] 靶向CD38分子的两种单克隆抗体达雷木单抗(daratumumab)和SAR650984已用于复发性和难治性MM(Sagar Lonial等J Clin Oncol.2015;33(suppl;abstr LBA8512);Plesner T,Jeckert J等,CCR 2014,DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-0695;Front Immunol.2018;9:1228.doi:10.3389)。靶向SLAMF7(信号传导淋巴细胞激活分子F7)的单克隆抗体埃罗妥珠单抗(elotuzumab)在作为组合治疗的一部分给予时在复发性MM中显示出活性(Lonial S,等,N Engl J Med.2015)。然而,需要更好的治疗选择来提高用于治疗老年或虚弱患者的复发性或难治性疾病的成功率,并且作为目前接受的一线治疗的替代方案,以降低副作用并提高效力。

[0012] B细胞成熟抗原(BCMA,CD269,TNFRSF17)是MM细胞的标志物,并且在早期100%MM肿瘤细胞上表达,而正常组织表达仅限于浆细胞和成熟B细胞的亚组(Avery DT等,J Clin Invest.2003,112(2))。除MM之外,BCMA在淋巴瘤临床样本的亚组以及许多淋巴瘤细胞系(包括Raji非霍奇金淋巴瘤系)中表达(Thompson J S等,Exp Med.2000Jul 3;192(1):129-35.;Rennert P等,J Exp Med.2000 Dec 4;192(11):1677-84)。

[0013] 靶向BCMA的CAR方法优于小分子组合治疗,因为其在消除BCMA阳性肿瘤细胞和肿瘤干细胞方面可实现更好的效力,并且因为其避免了与组合治疗相关的毒性。另外,CAR T治疗可避免需要造血干细胞移植或串联移植,并提高治疗的长期耐受性、效力和存活。

[0014] 完全人BCMA CAR代表了对现有技术的改进,因为在CAR设计中使用了独特的人ScFv序列,这与在其他地方的CAR设计中采用的鼠来源的ScFv相反。小鼠来源的序列带有免疫原性的风险,并且可在患者中诱导变态反应或过敏反应,从而导致CAR T消除或危及生命的过敏症。

[0015] 嵌合抗原受体(CAR)是包含三个基本单元的杂合分子:(1)胞外抗原结合基序,(2)连接/跨膜基序,以及(3)胞内T细胞信号传导基序(Long AH,Haso WM,Orentas RJ.Lessons learned from a highly-active CD22-specific chimeric antigen receptor.Oncoimmunology.2013;2(4):e23621)。CAR的抗原结合基序通常在免疫球蛋白(immunoglobulin,Ig)分子的最小结合结构域单链可变片段(single chain Fragment variable,ScFv)之后形成。还已经改造了替代的抗原结合基序,例如受体配体(即,IL-13已

被改造为结合肿瘤表达的IL-13受体)、完整的免疫受体、文库来源的肽和固有免疫系统效应分子(例如NKG2D)。用于CAR表达的替代细胞靶标(例如NK或γ-δT细胞)也在开发中(Brown CE等.Clin Cancer Res.2012;18(8):2199-209;Lehner M等.PLoS One.2012;7(2):e31210)。关于限定最活跃的T细胞群以用CAR载体进行转导,确定最佳培养和扩增技术,以及限定CAR蛋白质结构本身的分子细节,仍然有重要的工作。

[0016] CAR的连接基序可以是相对稳定的结构结构域,例如IgG的恒定结构域,或设计成延伸的柔性接头。可使用结构基序(例如来源于IgG恒定结构域的那些)来使ScFv结合结构域延伸远离T细胞质膜表面。这对于其中结合结构域特别接近肿瘤细胞表面膜的一些肿瘤靶标(例如对于二唾液酸神经节苷脂GD2;Orentas等,未发表的观察结果)来说可以是重要的。迄今为止,CAR中使用的信号传导基序总是包含CD3-ζ链,因为该核心基序是T细胞活化的关键信号。首次报道的第二代CAR的特征在于CD28信号传导结构域和CD28跨膜序列。该基序也用于包含CD137(4-1BB)信号传导基序的第三代CAR中(Zhao Y等,J Immunol.2009;183(9):5563-74)。随着利用与抗CD3和抗CD28抗体连接的珠来活化T细胞的新技术的出现,来自CD28的经典"信号2"的存在不再需要由CAR本身编码。使用珠活化,发现第三代载体在体外测定中并不优于第二代载体,并且它们在白血病的小鼠模型中并不提供优于第二代载体的明显益处(Haso W,Lee DW,Shah NN,Stetler-Stevenson M,Yuan CM,Pastan IH,Dimitrov DS,Morgan RA,FitzGerald DJ,Barrett DM,Wayne AS,Mackall CL,Orentas RJ.Anti-CD22-chimeric antigen receptors targeting B cell precursor acute lymphoblastic leukemia.Blood.2013;121(7):1165-74;Kochenderfer JN等,Blood.2012;119(12):2709-20)。第二代CD28/CD3-ζ中CD19特异性CAR的临床成功(Lee DW等,American Society of Hematology Annual Meeting.New Orleans,LA;十二月,7-10,2013)和CD137/CD3-ζ信号传导形式(Porter DL等,N Engl J Med.2011;365(8):725-33)证实了这一点。除CD137之外,其他肿瘤坏死因子受体超家族成员(例如OX40)也能够在CAR转导的T细胞中提供重要的持久信号(Yvon E等,Clin Cancer Res.2009;15(18):5852-60)。培养CAR T细胞群的培养条件同样重要。

[0017] 目前在更广泛且有效地适应癌症的CAR治疗方面的挑战与有说服力的靶标的缺乏相关。创建针对细胞表面抗原的结合物现在可容易地实现,但发现对肿瘤具有特异性同时免去正常组织的细胞表面抗原仍然是艰巨的挑战。赋予表达CAR的T细胞更高的靶细胞特异性的一种潜在方法是使用组合CAR方法。在一个系统中,CD3-ζ和CD28信号单元在同一细胞中表达的两种不同CAR构建体之间是分开的;在另一个系统中,两个CAR在同一个T细胞中表达,但一个具有较低的亲和力,并因此需要首先使用替代的CAR以使第二个发挥全部的活性(Lanitis E等Cancer Immunol Res.2013;1(1):43-53;Kloss CC等Nat Biotechnol.2013;31(1):71-5)。生成单个基于ScFv的CAR作为免疫治疗剂的第二个挑战是肿瘤细胞异质性。至少有一个小组已经开发出针对胶质母细胞瘤的CAR策略,其中效应细胞群同时靶向多种抗原(HER2、IL-13Ra、EphA2),希望避免靶抗原阴性群的结果(outgrowth)。(Hegde M等Mol Ther.2013;21(11):2087-101)。

[0018] 基于T细胞的免疫治疗已成为合成生物学中的新前沿;考虑了多个启动子和基因产物以将这些高度强效的细胞引导至肿瘤微环境,在那里T细胞既可逃避负调节信号,又可介导有效的肿瘤杀伤。通过诱导型胱天蛋白酶9(caspase 9)构建体与AP1903的药物诱导的

二聚化消除不期望的T细胞示出了这样一种方式,其中可药理学地启动可控制T细胞群的强大开关(Di Stasi A等,N Engl J Med.2011;365(18):1673-83)。通过诱饵受体的表达来产生对转化生长因子-β的负调控作用免疫的效应T细胞群进一步示出效应T细胞可被改造以达到最佳抗肿瘤活性的程度(Foster AE等,J Immunother.2008;31(5):500-5)。因此,尽管CAR似乎能够以类似于内源性T细胞受体的方式触发T细胞活化,但迄今为止这种技术的临床应用的主要障碍一直限于CAR+T细胞的体内扩增、输注之后细胞的迅速消失、以及令人失望的临床活性。因此,在本领域中对于发现用于使用可表现出特异性的和有效的抗肿瘤作用而没有上述缺点的方法来治疗MM的新组合物和方法存在迫切且长期的需求。

[0019] 本发明通过提供可用于治疗BCMA阳性癌症和其他疾病和/或病症的CAR组合物和治疗方法来解决这些需求。特别地,如本文中所公开和描述的本发明提供了这样的CAR:其可用于治疗BCMA阳性癌症,并且所述CAR包含BCMA抗原结合结构域,其表现出在转导的T细胞上的高表面表达、表现出高度的细胞裂解和转导的T细胞体内扩增和持续性。

[0020] 发明概述

[0021] 本文中提供了新的抗BCMA抗体或其抗原结合结构域和包含这样的BCMA抗原结合结构域的嵌合抗原受体(CAR),以及表达所述受体的宿主细胞(例如,T细胞)和编码所述受体的核酸分子。CAR可由效应细胞表面上表达的单个分子组成,或者CAR包含效应细胞表达的信号传导模块和可溶性靶向模块,例如当可溶性靶向模块与细胞表达的信号传导模块结合时,形成完整的功能性CAR。CAR在转导的T细胞上表现出高表面表达,具有高度的细胞裂解和转导的T细胞体内扩增和持续性。还提供了使用所公开的CAR、宿主细胞和核酸分子例如以在对象中治疗癌症的方法。

[0022] 因此,在一个方面中,提供了编码人抗BCMA抗体或其片段的分离的多核苷酸,其包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、15、17、19、21、23、25、69、71、73、75和77的核酸序列。

[0023] 在一个实施方案中,提供了编码完全人抗BCMA抗体或其片段的分离的多核苷酸,其中所述抗体或其片段包含选自Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段和单链Fv(ScFv)的片段。

[0024] 在一个实施方案中,提供了编码完全人抗BCMA抗体或其片段的分离的多核苷酸,其中所述抗体或其片段包含选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列。

[0025] 在一个方面中,提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸分子,所述CAR从N端到C端包含至少一个BCMA抗原结合结构域、至少一个跨膜结构域和至少一个胞内信号传导结构域,所述至少一个BCMA抗原结合结构域由包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、15、17、19、21、23、25、69、71、73、75和77的核酸序列的核苷酸序列编码。

[0026] 在一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA抗原结合结构域包含与BCMA结合的抗体的至少一个单链可变片段。

[0027] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA抗原结合结构域包含与BCMA结合的抗体的至少一个重链可变区。

[0028] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA抗原结合结构域包含ScFv。

[0029] 在一个实施方案中,CAR的靶向结构域以单克隆抗体、ScFv Fab、Fab'2的形式独立表达并且包含与另外的结合标签或表位偶联的抗原靶向结构域,所述抗原靶向结构域包含

选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、15、17、19、21、23、25、69、71、73、75和77的核酸序列,而CAR的效应细胞表达组分包含结合结构域,所述结合结构域被特异性地针对以结合可溶性CAR模块上表达的标签或表位,例如CAR的可溶性组分与CAR的细胞结合组分的特异性结合形成完整的功能性CAR结构。

[0030] 在另一个实施方案中,CAR的靶向结构域以单克隆抗体、ScFv Fab、Fab'2的形式独立表达并且包含抗原靶向结构域和另外的ScFv,所述抗原靶向结构域包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、15、17、19、21、23、25、69、71、73、75和77的核酸序列,而CAR的效应细胞表达组分包含与可溶性CAR模块上表达的另外的ScFv特异性反应的标签或表位,例如CAR的可溶性组分与CAR的细胞结合组分的特异性结合形成完整的功能性CAR结构。

[0031] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的CAR胞外BCMA抗原结合结构域还包含至少一个与BCMA结合的基于脂质运载蛋白(lipocalin)的抗原结合抗原(anticalin)。

[0032] 在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA抗原结合结构域通过接头结构域与跨膜结构域连接。

[0033] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中在所编码的BCMA胞外抗原结合结构域之前是编码前导或信号肽的序列。

[0034] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,所述CAR包含至少一个BCMA抗原结合结构域,所述至少一个BCMA抗原结合结构域由包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、15、17、19、21、23、25、69、71、73、75和77的核酸序列的核苷酸序列编码,并且其中所述CAR另外编码靶向抗原的胞外抗原结合结构域,所述抗原包括但不限于CD19、CD20、CD22、ROR1、间皮素、CD33、CD38、CD123(IL3RA)、CD138、GPC2、GPC3、FGFR4、c-Met、PSMA、糖脂F77、EGFRvIII、GD-2、NY-ESO-1 TCR、MAGE A3 TCR,或其任意组合。

[0035] 在某些实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中另外编码的胞外抗原结合结构域包含抗CD19 ScFv抗原结合结构域、抗CD20 ScFv抗原结合结构域、抗CD22 ScFv抗原结合结构域、抗ROR1 ScFv抗原结合结构域、抗间皮素ScFv抗原结合结构域、抗CD33 ScFv抗原结合结构域、抗CD38 ScFv抗原结合结构域、抗CD123(IL3RA)ScFv抗原结合结构域、抗CD138 ScFv抗原结合结构域、抗GPC2 ScFv抗原结合结构域、抗GPC3 ScFv抗原结合结构域、抗FGFR4 ScFv抗原结合结构域、抗c-Met ScFv抗原结合结构域、抗PMSA ScFv抗原结合结构域、抗糖脂F77 ScFv抗原结合结构域、抗EGFRvIII ScFv抗原结合结构域、抗GD-2 ScFv抗原结合结构域、抗NY-ESo-1 TCR ScFv抗原结合结构域、抗MAGE A3 TCR ScFv抗原结合结构域,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其任意组合。

[0036] 在一个方面中,本文中提供的CAR还包含接头或间隔区结构域。

[0037] 在一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所述胞外BCMA抗原结合结构域、所述胞内信号传导结构域或这二者通过接头或间隔区结构域与所述跨膜结构域连接。

[0038] 在一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的接头结构域来源于CD8或CD28的胞外结构域,并且与跨膜结构域连接。

[0039] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的CAR还包

含跨膜结构域,所述跨膜结构域包含选自以下的蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体的α、β或ζ链,CD28,CD3ε,CD45,CD4,CD5,CD8,CD9,CD16,CD22,CD33,CD37,CD64,CD80,CD86,CD134,CD137和CD154,或其组合。

[0040] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的胞内信号传导结构域还包含CD3ζ胞内结构域。

[0041] 在一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的胞内信号传导结构域布置在相对于CD3ζ胞内结构域的C端侧。

[0042] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的至少一个胞内信号传导结构域包含共刺激结构域、初级信号传导结构域,或其组合。

[0043] 在另一些实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的至少一个共刺激结构域包含以下的功能性信号传导结构域:OX40、CD70、CD27、CD28、CD5、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)、DAP10、DAP12和4-1BB(CD137),或其组合。

[0044] 在一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其还包含前导序列或信号肽,其中所述前导或信号肽核苷酸序列包含SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:41或SEQ ID NO:43的核苷酸序列。

[0045] 在另一个实施方案中,提供了编码CAR的分离的核酸分子,其中所编码的前导序列包含SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:44的氨基酸序列。

[0046] 在一个方面中,本文中提供了嵌合抗原受体(CAR),其从N端到C端包含至少一个BCMA抗原结合结构域、至少一个跨膜结构域和至少一个胞内信号传导结构域。

[0047] 在一个实施方案中,提供了CAR,其中所述胞外BCMA抗原结合结构域包含与抗原结合的抗体的至少一个单链可变片段,或与抗原结合的抗体的至少一个重链可变区,或其组合。

[0048] 在另一个实施方案中,提供了CAR,其中所述至少一个跨膜结构域包含选自以下的蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体的α、β或ζ链,CD28,CD3ε,CD45,CD4,CD5,CD8,CD9,CD16,CD22,CD33,CD37,CD64,CD80,CD86,CD134,CD137和CD154,或其组合。

[0049] 在一些实施方案中,提供了CAR,其中CAR另外编码包含以下的胞外抗原结合结构域:CD19、CD20、CD22、ROR1、间皮素、CD33、CD38、CD123(IL3RA)、CD138、GPC2、GPC3、FGFR4、c-Met、PSMA、糖脂F77、EGFRvIII、GD-2、NY-ESO-1 TCR、MAGE A3 TCR或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其任意组合。

[0050] 在一个实施方案中,提供了CAR,其中所述胞外抗原结合结构域另外包含抗CD19 ScFv抗原结合结构域、抗CD20 ScFv抗原结合结构域、抗CD22 ScFv抗原结合结构域、抗ROR1 ScFv抗原结合结构域、抗间皮素ScFv抗原结合结构域、抗CD33 ScFv抗原结合结构域、抗CD38 ScFv抗原结合结构域、抗CD123(IL3RA)ScFv抗原结合结构域、抗CD138 ScFv抗原结合结构域、抗GPC2 ScFv抗原结合结构域、抗GPC3 ScFv抗原结合结构域、抗FGFR4 ScFv抗原结合结构域、抗c-Met ScFv抗原结合结构域、抗PMSA ScFv抗原结合结构域、抗糖脂F77 ScFv抗原结合结构域、抗EGFRvIII ScFv抗原结合结构域、抗GD-2 ScFv抗原结合结构域、抗NY-ESo-1 TCR ScFv抗原结合结构域、抗MAGE A3 TCR ScFv抗原结合结构域,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其任意组合。

[0051] 在另一个实施方案中,提供了CAR,其中所述胞外抗原结合结构域另外包含仅免疫

球蛋白可变重链(VH)抗CD19抗原结合结构域、抗CD20 VH抗原结合结构域、抗CD22 VH抗原结合结构域、抗ROR1 VH抗原结合结构域、抗间皮素VH抗原结合结构域、抗CD33 VH抗原结合结构域、抗CD38 VH抗原结合结构域、抗CD123(IL3RA)VH抗原结合结构域、抗CD138 VH抗原结合结构域、抗GPC2 VH抗原结合结构域、抗GPC3 VH抗原结合结构域、抗FGFR4 VH抗原结合结构域、抗c-Met VH抗原结合结构域、抗PMSA VH抗原结合结构域、抗糖脂F77 VH抗原结合结构域、抗EGFRvIII VH抗原结合结构域、抗GD-2 VH抗原结合结构域、抗NY-ESO-1 TCR VH抗原结合结构域、抗MAGE A3 TCR VH抗原结合结构域,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其任意组合。

[0052] 在另一个实施方案中,提供了CAR,其中所述胞外抗原结合结构域另外包含能够特异性结合靶抗原的蛋白质或肽(P)序列,其可来源于包含以下的天然或合成序列:抗CD19 P抗原结合结构域、抗CD20 P抗原结合结构域、抗CD22 P抗原结合结构域、抗ROR1 P抗原结合结构域、抗间皮素P抗原结合结构域、抗CD33 P抗原结合结构域、抗CD38 P抗原结合结构域、抗CD123(IL3RA)P抗原结合结构域、抗CD138 P抗原结合结构域、抗BCMA(CD269)P抗原结合结构域、抗GPC2 P抗原结合结构域、抗GPC3 P抗原结合结构域、抗FGFR4 P抗原结合结构域、抗c-Met P抗原结合结构域、抗PMSA P抗原结合结构域、抗糖脂F77 P抗原结合结构域、抗EGFRvIII P抗原结合结构域、抗GD-2 P抗原结合结构域、抗NY-ESO-1 TCR P抗原结合结构域、抗MAGE A3 TCR P抗原结合结构域,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列,或其任意组合。在另一个实施方案中,提供了CAR,其中所述至少一个胞内信号传导结构域包含共刺激结构域和初级信号传导结构域。

[0053] 在另一个实施方案中,提供了CAR,其中所述至少一个胞内信号传导结构域包含共刺激结构域,所述共刺激结构域包含选自以下的蛋白质的功能性信号传导结构域:OX40、CD70、CD27、CD28、CD5、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)、DAP10、DAP12和4-1BB(CD137),或其组合。

[0054] 在一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:87的核酸序列。在一个实施方案中,核酸序列编码包含SEQ ID NO:88的氨基酸序列的CAR。

[0055] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:89的核酸序列。在一个实施方案中,核酸序列编码包含SEQ ID NO:90的氨基酸序列的CAR。

[0056] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:91的核酸序列。在一个实施方案中,核酸序列编码包含SEQ ID NO:92的氨基酸序列的CAR。

[0057] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:93的核酸序列。在一个实施方案中,核酸序列编码包含SEQ ID NO:94的氨基酸序列的CAR。

[0058] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:95的核酸序列。在一个实施方案中,核酸序列编码包含SEQ ID NO:96的氨基酸序列的CAR。

[0059] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:97的核酸序列。在一个实施方案中,核酸序列编码包含SEQ ID NO:98的氨基酸序列的CAR。

[0060] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:99的核酸序列。在一个实施方案中,核酸序列编码包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列的CAR。

[0061] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:101的核酸序列。在一个实施方案中,核酸序列编码包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列的CAR。

[0062] 在一个方面中,本文中所公开的CAR被修饰以表达或包含可检测标志物以用于诊断、监测和/或预测治疗结果(例如癌症患者的无进展存活)或用于监测这样的治疗的进展。

[0063] 在一个实施方案中,编码所公开CAR的核酸分子可包含在载体,例如病毒载体中。载体是DNA载体、RNA载体、质粒载体、黏粒载体、疱疹病毒载体、麻疹病毒载体、慢病毒载体、腺病毒载体或逆转录病毒载体,或其组合。

[0064] 在某些实施方案中,载体还包含启动子,其中所述启动子是诱导型启动子、组织特异性启动子、组成型启动子、自杀型启动子(suicide promoter),或其任意组合。

[0065] 在另一个实施方案中,表达CAR的载体还可被修饰以包含一个或更多个控制CAR T细胞表达或借助自杀开关来消除CAR-T细胞的操纵元件。自杀开关可包括例如凋亡诱导性信号传导级联反应或诱导细胞死亡的药物。在一个优选实施方案中,表达CAR的载体还可被修饰以表达酶,例如胸苷激酶(thymidine kinase,TK)或胞嘧啶脱氨酶(cytosine deaminase,CD)。

[0066] 在另一个方面中,还提供了包含编码CAR的核酸分子的宿主细胞。在一些实施方案中,宿主细胞是T细胞,例如从对象获得的原代T细胞。在一个实施方案中,宿主细胞是$CD8^+$T细胞。

[0067] 在另一个方面中,提供了包含抗肿瘤有效量的人T细胞群的药物组合物,其中所述T细胞包含编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸序列,其中所述CAR包含至少一个胞外抗原结合结构域、至少一个接头结构域、至少一个跨膜结构域和至少一个胞内信号传导结构域,所述胞外抗原结合结构域包含含有选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列的BCMA抗原结合结构域,其中所述T细胞是患有癌症的人的T细胞。所述癌症尤其包括血液学癌症(hematological cancer),例如白血病(例如,慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia,CLL)、急性淋巴细胞白血病(acute lymphocytic leukemia,ALL)或慢性髓性白血病(chronic myelogenous leukemia,CML))、淋巴瘤(例如套细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma))或多发性骨髓瘤,或其组合。

[0068] 在一个实施方案中,提供了药物组合物,其中CAR的至少一个跨膜结构域包含选自以下的蛋白质的跨膜结构域:T细胞受体的α、β或ζ链,CD28,CD3ε,CD45,CD4,CD5,CD8,CD9,CD16,CD22,间皮素,CD33,CD37,CD64,CD80,CD86,CD134,CD137和CD154,或其组合。

[0069] 在另一个实施方案中,提供了药物组合物,其中人癌症包括成人上皮癌(adult carcinoma),其包括:口腔和咽癌(oral and pharynx cancer)(舌、口、咽、头和颈)、消化系统癌症(食管、胃、小肠、结肠、直肠、肛门、肝、肝内胆管、胆囊、胰腺)、呼吸系统癌症(喉、肺和支气管)、骨和关节癌、软组织癌症、皮肤癌(黑素瘤、基底和鳞状细胞癌)、儿科肿瘤(神经母细胞瘤、横纹肌肉瘤、骨肉瘤、尤因肉瘤(Ewing's sarcoma))、中枢神经系统的肿瘤(脑、星形细胞瘤、胶质母细胞瘤、胶质瘤),以及乳腺、生殖系统(子宫颈、子宫体、卵巢、外阴、阴道、前列腺、睾丸、阴茎、子宫内膜)、泌尿系统(膀胱、肾和肾盂、输尿管)、眼和眶(orbit)、内分泌系统(甲状腺)以及脑和其他神经系统的癌症,或其任意组合。

[0070] 在另一个实施方案中,提供了包含抗肿瘤有效量的患有癌症之人的人T细胞群的药物组合物,其中所述癌症是对一种或更多种化学治疗剂不具有响应性的难治性癌症。所述癌症包括造血系统癌症(hematopoietic cancer),骨髓增生异常综合征,胰腺癌,头颈

癌,皮肤肿瘤,多发性骨髓瘤(MM)、郁积性多发性骨髓瘤(SMM)、意义未明的单克隆丙种球蛋白病(MGUS)、成人和儿科血液学恶性肿瘤(包括急性淋巴细胞性白血病(acute lymphoblastic leukemia,ALL)、CLL(慢性淋巴细胞白血病)、非霍奇金淋巴瘤(NHL)(包括滤泡性淋巴瘤(follicular lymphoma,FL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma,DLBCL)、套细胞淋巴瘤(mantle cell lymphoma,MCL))、霍奇金淋巴瘤(HL)、慢性髓性白血病(CML))中的微小残留病(minimal residual disease,MRD),肺癌,乳腺癌,卵巢癌,前列腺癌,结肠癌,黑素瘤或其他血液学癌症和实体瘤,或其任意组合。

[0071] 在另一个方面中,提供了制备包含CAR的T细胞(以下称为"CAR-T细胞")的方法。所述方法包括用编码特异性结合BCMA的所公开的CAR的载体或核酸分子转导T细胞,从而制备CAR-T细胞。

[0072] 在另一个方面中,提供了产生RNA经改造细胞群的方法,其包括将编码所公开的CAR的核酸分子的体外转录RNA或合成RNA引入对象的细胞中,从而产生CAR细胞。

[0073] 在另一个方面中,提供了用于诊断与细胞上BCMA表达相关的疾病、障碍或病症的方法,其包括:a)使所述细胞与人抗BCMA抗体或其片段接触,其中所述抗体或其片段包含选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列;以及b)检测BCMA的存在,其中BCMA的存在诊断与BCMA表达相关的疾病、障碍或病症。

[0074] 在一个实施方案中,与BCMA表达相关的疾病、障碍或病症是癌症,其包括造血系统癌症、骨髓增生异常综合征、胰腺癌、头颈癌、皮肤肿瘤、急性淋巴细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、成人B细胞恶性肿瘤(包括CLL(慢性淋巴细胞白血病)、CML(慢性髓性白血病)、非霍奇金淋巴瘤(NHL))、儿科B细胞恶性肿瘤(包括B谱系ALL(急性淋巴细胞白血病))中的微小残留病(MRD)、多发性骨髓瘤、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、结肠癌、黑素瘤或其他血液学癌症和实体瘤,或其任意组合。

[0075] 在另一个实施方案中,提供了在哺乳动物中诊断、预后或确定BCMA相关疾病的风险的方法,其包括检测来源于哺乳动物的样品中BCMA的表达,其包括:a)使所述样品与人抗BCMA抗体或其片段接触,其中所述抗体或其片段包含选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列;以及b)检测BCMA的存在,其中BCMA的存在诊断哺乳动物中的BCMA相关疾病。

[0076] 在另一个实施方案中,提供了抑制BCMA依赖性T细胞抑制的方法,其包括使细胞与人抗BCMA抗体或其片段接触,其中所述抗体或其片段包含选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列。在一个实施方案中,所述细胞选自表达BCMA的肿瘤细胞、肿瘤相关巨噬细胞,及其任意组合。

[0077] 在另一个实施方案中,提供了在哺乳动物中阻断由表达BCMA的细胞介导的T细胞抑制并改变肿瘤微环境以抑制肿瘤生长的方法,其包括向所述哺乳动物施用有效量的包含分离的抗BCMA抗体或其片段的组合物,其中所述抗体或其片段包含选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列。在一个实施方案中,所述细胞选自表达BCMA的肿瘤细胞、肿瘤相关巨噬细胞,及其任意组合。

[0078] 在另一个实施方案中,提供了在哺乳动物中抑制、阻抑或预防抗肿瘤或抗癌免疫应答的免疫抑制的方法,其包括向所述哺乳动物施用有效量的包含分离的抗BCMA抗体或其片段的组合物,其中所述抗体或其片段包含选自SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、

24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列。在一个实施方案中,所述抗体或其片段抑制第一细胞与T细胞之间的相互作用,其中所述第一细胞选自表达BCMA的肿瘤细胞、肿瘤相关巨噬细胞,及其任意组合。

[0079] 在另一个方面中,提供了用于在哺乳动物中诱导抗肿瘤免疫的方法,其包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的经编码所公开的CAR的载体或核酸分子转导的T细胞。

[0080] 在另一个实施方案中,提供了在哺乳动物中治疗或预防癌症的方法,其包括以在哺乳动物中有效治疗或预防癌症的量向所述哺乳动物施用一种或更多种所公开的CAR。所述方法包括在以下条件下向对象施用治疗有效量的表达特异性结合BCMA和/或一种或更多种前述抗原的所公开的CAR的宿主细胞,所述条件足以在所述对象中形成CAR上的抗原结合结构域与BCMA和/或一种或更多种前述抗原的胞外结构域的免疫复合体。

[0081] 在另一个实施方案中,提供了用于治疗患有与肿瘤抗原表达升高相关的疾病、障碍或病症的哺乳动物的方法,所述方法包括向对象施用包含抗肿瘤有效量的T细胞群的药物组合物,其中所述T细胞包含编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸序列,其中所述CAR包含至少一个胞外BCMA抗原结合结构域、至少一个接头或间隔区结构域、至少一个跨膜结构域、至少一个胞内信号传导结构域,所述至少一个胞外BCMA抗原结合结构域包含SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列或其任意组合,并且其中所述T细胞是患有癌症的对象的T细胞。

[0082] 在另一个实施方案中,提供了用于在有此需要的对象中治疗癌症的方法,其包括向所述对象施用包含抗肿瘤有效量的T细胞群的药物组合物,其中所述T细胞包含编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸序列,其中所述CAR包含至少一个BCMA抗原结合结构域、至少一个接头或间隔区结构域、至少一个跨膜结构域、至少一个胞内信号传导结构域,所述至少一个BCMA抗原结合结构域包含SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列或其任意组合,其中所述T细胞是患有癌症的对象的T细胞。在前述方法的一些实施方案中,所述至少一个跨膜结构域包含以下的跨膜:T细胞受体的α、β或ζ链,CD28,CD3ε,CD45,CD4,CD5,CD8,CD9,CD16,CD22,间皮素,CD33,CD37,CD64,CD80,CD86,CD134,CD137和CD154,或其组合。

[0083] 在另一个实施方案中,提供了用于在被诊断患有癌症的人中产生持续性经遗传改造T细胞群的方法。在一个实施方案中,所述方法包括向人施用被遗传改造成表达CAR的T细胞,其中所述CAR包含至少一个BCMA抗原结合结构域、至少一个跨膜结构域和至少一个胞内信号传导结构域,所述至少一个BCMA抗原结合结构域包含SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、16、18、20、22、24、26、70、72、74、76和78的氨基酸序列或其任意组合,其中在施用之后,所述持续性经遗传改造T细胞群或所述T细胞的后代群在人中持续至少1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、2年或3年。

[0084] 在一个实施方案中,人中的后代T细胞包含记忆T细胞。在另一个实施方案中,所述T细胞是自体T细胞。

[0085] 在本文中所述的方法的所有方面和实施方案中,与肿瘤抗原表达升高相关的任何前述癌症、疾病、障碍或病症均可使用本文中所公开的一种或更多种CAR来治疗或预防或改善。

[0086] 在另一个方面中,提供了用于制备如上文所述的嵌合抗原受体T细胞或用于预防、

治疗或改善如上文所述的与对象中肿瘤抗原表达升高相关的任何癌症、疾病、障碍或病症的药盒(kit),所述药盒包含含有上文所公开的核酸分子、载体、宿主细胞或组合物的任一种或其任意组合的容器,以及使用所述药盒的说明书。

[0087] 应理解,CAR、宿主细胞、核酸以及方法在本文中详细描述的具体方面和实施方案之外是可用的。从下面参照附图进行的详细描述中,本公开内容的前述特征和优点将变得更明显。

[0088] 附图简述

[0089] 图1描绘了靶向BCMA的CAR的构建。抗BCMA ScFv靶向结构域与CD8铰链和跨膜结构域、4-1BB(CD137)信号传导结构域和CD3ζ信号传导结构域框内连接。

[0090] 图2描绘了靶向BCMA的CAR T构建体在人原代T细胞上的表面表达。CAR T表达通过流式细胞术确定。如材料和方法中所述的,T细胞在存在IL-2的情况下用Miltenyi Biotec TransAct TM CD3 CD28试剂活化,并用LV转导。在培养的第8天,使用蛋白质L方法(上部的图)或BCMA-Fc方法(下部的图)测定存活的经转导T细胞(7-AAD阴性)的CAR表面表达。每个转导中使用的CAR构建体标识符(ScFv编号)列在每个图上方。条代表相对于未经转导的T细胞对照(UTD)的CAR T阳性群的百分比。

[0091] 图3A至3C描绘了体外CAR T细胞毒性。CAR由其ScFv编号命名,前面带有前缀“BCMA”。使用用萤火虫萤光素酶稳定转导的BCMA阳性肿瘤系RPMI-8226(图3A)和MM1.S(图3B)或BCMA阴性细胞系293T(图3C)进行基于萤光素酶的细胞毒性测定。条代表来自三个技术重复的平均值+SD值。

[0092] 图4A至4B描绘了靶向BCMA的CAR T构建体在人原代T细胞上的表面表达。使用Miltenyi细胞分离试剂通过CD4+CD8+阳性选择从血沉棕黄层分离T细胞。CAR T表达通过流式细胞术确定。如材料和方法中所述的,T细胞在存在IL-2的情况下用Miltenyi Biotec TransAct TM CD3 CD28试剂活化,并用LV转导。在培养的第8天,使用BCMA-Fc方法测定存活的经转导T细胞(7-AAD阴性)的CAR表面表达。CAR构建体编号列在每个图的左侧。CAR T在CD8-(CD4+)和CD8+细胞群中的表达在左列(图4A)中示出,并且总CAR表达在右侧的直方图中(图4B)中示出。右侧的条代表相对于未经转导的T细胞对照(UTD,未示出)的CAR T阳性群的百分比。

[0093] 图5A至5B描绘了抗BCMA CAR D0084、D0085、D0086、D0087、D0099、D0100在两个独立供体中的体外细胞毒性。使用用萤火虫萤光素酶稳定转导的BCMA阳性肿瘤系RPMI-8226和MM1.S或BCMA阴性细胞系293T进行基于萤光素酶的细胞毒性测定。条代表来自三个技术重复的平均值+SD值。

[0094] 图6A至6G描绘了在长期体外共孵育测定中,D100 BCMA CAR与D085 BCMA CAR相比的优异功能性。(图6A)BCMA CAR D100和D085的结构包含与CD8胞外结构域和跨膜结构域连接的scFv CAR靶向结构域,然后是4-1BB共刺激分子和CD3ζ结构域。(图6B)用含有D100或D085 BCMA CAR构建体的慢病毒载体以多种MOI转导T细胞,并通过流式细胞术评估CAR的细胞表面表达。(图6C)在长期共培养实验中,CAR T细胞与标记有GFP的靶标多发性骨髓瘤细胞系MM1.S以0.1的ETT比进行共孵育。共培养在20天的跨度内重复四轮。通过流式细胞术在四轮共培养期间的不同时间点通过分别量化CD3+细胞和GFP+细胞的数目来评估(图6D)T细胞和(图6E)靶细胞的绝对计数。绝对计数通过使用CountBright绝对计数珠确定。(图6F)通

过流式细胞术对长期共培养期间的多个时间点下的CAR+CD4+和CD8+百分比的变化进行评估。(图6F)在第三轮共培养期间,在第11天通过胞内染色和流式细胞术分析确定CD3+细胞中IL-2、TNFα和IFNγ的产生(图6G)。

[0095] 图7A至7C描绘了靶向BCMA的CAR构建体的体内评价。(图7A)将800万个RPMI-8226细胞皮内注射至NSG小鼠(所有组n=8,除未经处理的,n=5之外)的腹部并允许移植17天,之后静脉内注射500万个/小鼠的CAR T细胞。将输注的CAR T细胞数目基于CAR表达水平进行归一化。在第6天,在T细胞输注之后,每组处死3只小鼠用于肿瘤收获,同时监测剩余小鼠的(图7B)肿瘤生长和(图7C)存活。

[0096] 图8A至8D描绘了并入scFv序列4-1c的CAR D153的体外表征。将scFv 4-1c克隆到与如图6A所示在CARD100和D085中所使用的相同的包含CD8胞外结构域和跨膜结构域、4-1BB共刺激结构域以及CD3ζ活化结构域的CAR骨架中。(图8A)CAR D153、D100和D085在原代人T细胞中的慢病毒转导效率通过流式细胞术测量。(图8B)抗BCMA CAR D153、D100、D085或未经转导的UTD对照T细胞的体外细胞毒性。使用用萤火虫萤光素酶稳定转导的BCMA阳性肿瘤系RPMI-8226和MM1.S进行基于萤光素酶的细胞毒性测定。(图8C)。在RPMI-8226皮内NSG异种移植模型中,靶向BCMA的CAR D153相比于BCMA CAR D100的体内评价。(n=5)(图8D)。在皮内注射800万个RPMI-8226细胞/小鼠之后,建立肿瘤,进行17天。将荷瘤小鼠分配至具有相等平均肿瘤体积的组。i.v.注射500万个CAR T细胞或UTD对照,并且每周记录3次肿瘤体积直至研究第40天。未经处理-仅肿瘤对照。

[0097] 图9A至9E描绘了并入截短的TGFBRII显性阴性受体的经武装(armored)BCMA CAR表现出的对免疫抑制性TGFβ作用的抗性。(图9A)将TGFBRII的胞外结合结构域和跨膜结构域的序列(但不包括胞内激酶结构域)克隆到D100 BCMA CAR构建体中。P2A元件用于允许BCMA CAR和TGFBRII DN的独立共表达。(图9B)用包含D100 BCMA CAR构建体或将D100 CAR与TGFBRII DN元件(D158)结合的经武装BCMA CAR构建体的慢病毒载体分别以MOI 10和80转导T细胞。BCMA CAR(上图)和TGFBRII(下图)的细胞表面表达通过流式细胞术评估。(图9C)在长期共培养实验中,CAR T细胞与靶细胞MM1.S-GFP以0.1的ETT比进行共孵育,并且培养基用10ng/ml的TGFβ处理或保持未处理。当靶细胞在第6天被清除时,共培养以0.1的初始ETT比延长第二轮。通过使用绝对计数珠的流式细胞术定量CD3+和GFP+细胞的数目来评估(图9D)T细胞和(图9E)靶细胞在长期共培养期间不同时间点的绝对计数。

[0098] 图10A至10H描绘了并入截短的TGFBRII显性阴性元件的经武装BCMA CAR D158在体内根除肿瘤方面的优异效力。(图10A)将多发性骨髓瘤细胞系RPMI-8226和MM1.S培养4天,并且收集上清液并用1M HCL处理以激活潜伏的TGFβ,或者上清液保持未处理。通过ELISA检测上清液中活性TGFβ的存在。(图10B)NSG小鼠在腹部皮内注射8e6 RPMI-8226细胞(n=8,除未经处理的,n=5之外)。在肿瘤注射之后第17天,静脉内注射5e6CAR+T细胞。通过调整输注的T细胞总数将CAR表达水平的差异进行归一化。在T细胞输注之后第7天,将每组(除未经处理组之外)中的3只小鼠处死用于肿瘤收获,同时监测剩余小鼠的(图10C)肿瘤进展和(图10D)存活。(图10E)第6天肿瘤中CD3+细胞的绝对计数、(图10F)CD3+CAR+、(图10G)CD3+PD1+和(图10H)CD3+CD45RO+细胞的百分比通过流式细胞术确定。

[0099] 发明详述

[0100] 定义

[0101] 除非上下文另外明确指出,否则本文中使用的没有数量词修饰的名词表示一个/种或更多个/种。例如,术语“抗原”包括单个/种或多个/种抗原,并且可认为与短语“至少一个/种抗原”等同。本文中使用的术语“包含”意指“包括”。因此,“包含抗原”意指“包括抗原”而不排除其他要素。短语“和/或”意指“和”或“或/或者”。应进一步理解,除非另外指出,否则对于核酸或多肽给出的任何和所有碱基大小或氨基酸大小以及所有分子量或分子质量值都是近似的,并且是出于描述的目的而提供。虽然可使用与本文中描述的那些类似或等同的许多方法和材料,但是下文描述了特定的合适的方法和材料。在有冲突的情况下,以本说明书(包括对术语的解释)为准。此外,材料、方法和实例仅是举例说明性的,而不旨在是限制性的。为了便于查阅多个实施方案,提供了以下对术语的解释:

[0102] 术语“约”当指可测量值(例如量、持续时间等)时意指涵盖与特定值的.+-.20%、或在一些情况下.+-.10%、或在一些情况下.+-.5%、或在一些情况下.+-.1%、或在一些情况下.+-.0.1%的变化,因为这样的变化适合于进行所公开的方法。

[0103] 除非另外指出,否则根据常规用法使用本文中的技术术语。分子生物学中常用术语的定义可见于Benjamin Lewin,Genes VII,Oxford University出版社出版,1999;Kendrew等(编辑),The Encyclopedia of Molecular Biology,Blackwell Science Ltd.出版,1994;以及Robert A.Meyers(编辑),Molecular Biology and Biotechnology:A Comprehensive Desk Reference,VCH Publishers,Inc.出版,1995;以及其他类似的参考文献。

[0104] 本公开内容提供了BCMA抗体或其片段以及具有这样的BCMA抗原结合结构域的嵌合抗原受体(CAR)。CAR的功能活性的增强与表达CAR的T细胞的功能活性的增强直接相关。作为这些修饰中一种或更多种的结果,CAR表现出高度的细胞因子诱导的细胞裂解和转导T细胞上的细胞表面表达二者,以及提高的体内T细胞扩增水平和转导的表达CAR的T细胞的持续性。

[0105] 将来源于不同蛋白质结构域的功能性部分组合的独特能力是嵌合抗原受体(CAR)的关键创新特征。这些蛋白质结构域中每一个的选择是关键设计特征,其特异性组合的方式也如此。每个设计结构域都是可在不同CAR平台之间使用以改造淋巴细胞的功能的必需组分。例如,胞外结合结构域的选择可使得在其他情况下无效的CAR变得有效。

[0106] 用于建立CAR的胞外抗原结合结构域的免疫球蛋白来源蛋白质序列的恒定框架组分可以是完全中性的或其可以自缔合并驱使T细胞达到代谢衰竭的状态,由此使表达该CAR的治疗性T细胞的效果远远更低。这独立于该CAR结构域的抗原结合功能而发生。此外,胞内信号传导结构域的选择也可控制用于免疫治疗的治疗性淋巴细胞群的活性和持久性。尽管分别通过这些胞外和胞内结构域结合靶抗原的能力和向T细胞传递活化信号的能力是重要的CAR设计方面,但是还变得明显的是,胞外抗原结合片段来源的选择可对CAR的效力具有显著影响,并且从而对CAR的功能和临床效用具有限定作用。

[0107] 令人惊讶且预料不到的是,现已发现在CAR中使用完全人抗原结合结构域而不是使用易于在宿主中诱导抗小鼠免疫应答和CAR T消除的小鼠来源的抗原结合片段(参见,the UPenn-sponsored clinical trial using mouse derived SS1 ScFv sequence,NCT02159716)也可决定表达CAR的T细胞的功能活性。

[0108] 本文中所公开的CAR在细胞中以高水平表达。表达CAR的细胞具有高体内增殖速

率,产生大量细胞因子,并且针对在其表面上具有与CAR结合的BCMA抗原的细胞具有高细胞毒活性。人胞外BCMA抗原结合结构域的使用导致产生在体内更好地起作用的CAR,同时避免了在宿主免疫应答中诱导抗CAR免疫和杀伤CAR T细胞群。表达完全人胞外BCMA ScFv抗原结合结构域的CAR表现出优异的活性/特性,其包括i)防止如在小鼠来源的结合序列的情况下所见的差的CAR T持久性和功能;ii)使缺乏区域性(即胸膜腔内)递送CAR有效;以及iii)能够基于对BCMA具有高亲和力和低亲和力的结合物二者产生CAR T细胞设计。后一种特性允许研究者更好地调节CAR T产品的效力与毒性,和/或组织特异性,因为由于肿瘤上BCMA的表达高于正常组织,因此与正常组织相比,较低亲和力的结合物可对肿瘤具有更高的特异性,这可防止脱靶肿瘤毒性(on-target off tumor toxicity)和旁观者(bystander)细胞杀伤。

[0109] 以下是对本发明CAR的详细描述,包括对其胞外BCMA抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内结构域的描述,以及对CAR、抗体及其抗原结合片段、缀合物、核苷酸、表达、载体以及宿主细胞、治疗方法、组合物和使用所公开CAR的药盒的另外的描述。

[0110] A.嵌合抗原受体(CAR)

[0111] 本文中所公开的CAR包含至少一个能够与BCMA结合的BCMA抗原结合结构域、至少一个跨膜结构域和至少一个胞内结构域。

[0112] 嵌合抗原受体(CAR)是人工构建的杂合蛋白或多肽,其包含通过跨膜结构域与T细胞信号传导结构域连接的抗体的抗原结合结构域(例如,单链可变片段(ScFv))。CAR的特征包括其能够以非MHC限制性方式朝着所选靶标重定向T细胞特异性和反应性,以及利用单克隆抗体的抗原结合性质。非MHC限制性抗原识别赋予表达CAR的T细胞以不依赖于抗原加工而识别抗原的能力,因此绕过了主要的肿瘤逃逸机制。此外,当在T细胞中表达时,CAR有利地不与内源性T细胞受体(T cell receptor,TCR)α和β链二聚化。

[0113] 如本文中公开的,CAR的胞内T细胞信号传导结构域可包括例如T细胞受体信号传导结构域、T细胞共刺激信号传导结构域或这二者。T细胞受体信号传导结构域是指包含T细胞受体的胞内结构域(例如但不限于CD3ζ蛋白的胞内部分)的CAR的一部分。共刺激信号传导结构域是指包含共刺激分子的胞内结构域的CAR的一部分,所述共刺激分子是淋巴细胞对抗原的有效应答所需的除抗原受体或其配体以外的细胞表面分子。

[0114] 1.胞外结构域

[0115] 在一个实施方案中,CAR包含靶特异性结合元件,其也称为抗原结合结构域或部分。结构域的选择取决于限定靶细胞表面的配体的类型和数目。例如,可选择抗原结合结构域以识别充当与特定疾病状态相关的靶细胞上的细胞表面标志物的配体。因此,可充当CAR中抗原结合结构域的配体的细胞表面标志物的一些实例包括与病毒、细菌和寄生物感染、自身免疫病和癌细胞相关的那些。

[0116] 在一个实施方案中,可通过改造与肿瘤细胞上的抗原特异性结合的期望抗原结合结构域来改造CAR以靶向目的肿瘤抗原。肿瘤抗原是由肿瘤细胞产生的引起免疫应答(特别是T细胞介导的免疫应答)的蛋白质。抗原结合结构域的选择将取决于待治疗癌症的具体类型。肿瘤抗原包括例如胶质瘤相关抗原、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,CEA)、.β.-人绒毛膜促性腺激素、甲胎蛋白(alphafetoprotein,AFP)、凝集素反应性AFP、甲状腺球蛋白、RAGE-1、MN-CA IX、人端粒酶逆转录酶、RU1、RU2(AS)、肠羧基酯酶、mut hsp70-2、M-CSF、

前列腺酶、前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen,PSA)、PAP、NY-ESO-1、LAGE-1a、p53、prostein、PSMA、Her2/neu、存活蛋白(survivin)和端粒酶、前列腺癌肿瘤抗原-1(prostate-carcinoma tumor antigen-1,PCTA-1)、MAGE、ELF2M、中性粒细胞弹性蛋白酶、肝配蛋白(ephrinB2)、CD22、胰岛素生长因子(insulin growth factor,IGF)-I、IGF-II、IGF-I受体和BCMA。本文中公开的肿瘤抗原仅以举例的方式包括在内。该列表并不旨在是排他性的,并且其他实例对于本领域技术人员而言将是明显的。

[0117] 在一个实施方案中,肿瘤抗原包含与恶性肿瘤相关的一种或更多种抗原性癌症表位。恶性肿瘤表达许多可充当免疫攻击的靶抗原的蛋白质。这些分子包括但不限于组织特异性抗原,例如黑素瘤中的MART-1、酪氨酸酶和GP100,以及前列腺癌中的前列腺酸性磷酸酶(prostatic acid phosphatase,PAP)和前列腺特异性抗原(PSA)。另一些靶分子属于转化相关分子的组,例如癌基因HER-2/Neu/ErbB-2。另一组靶抗原是癌-胚胎抗原(onco-fetal antigen),例如癌胚抗原(CEA)。在B细胞淋巴瘤中,肿瘤特异性独特型免疫球蛋白构成个体肿瘤独特的真正肿瘤特异性的免疫球蛋白抗原。B细胞分化抗原(例如CD19、CD20和CD37)是B细胞淋巴瘤中靶抗原的另一些候选物。这些抗原中的一些(CEA、HER-2、CD19、CD20,独特型)已被用作单克隆抗体被动免疫治疗的靶标,但成效有限。

[0118] 在一个优选实施方案中,肿瘤抗原是BCMA,并且与BCMA表达相关的肿瘤包括表达高水平的胞外蛋白BCMA的肺间皮瘤、卵巢癌和胰腺癌,或其任意组合。

[0119] 肿瘤抗原的类型也可以是肿瘤特异性抗原(tumor-specific antigen,TSA)或肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen,TAA)。TSA是肿瘤细胞独有的,并且不在体内的其他细胞上出现。TAA不是肿瘤细胞独有的,并且相反在无法诱导对抗原免疫耐受状态的条件下也在正常细胞上表达。抗原在肿瘤上的表达可在使得免疫系统能够对抗原作出应答的条件下发生。TAA可以是当免疫系统不成熟并且不能应答时在胎儿发育期间在正常细胞上表达的抗原,或者其可以是在正常细胞上通常以极低水平存在但在肿瘤细胞上以高得多的水平表达的抗原。

[0120] TSA或TAA的一些非限制性实例包括以下:分化抗原,例如MART-1/MelanA(MART-1)、gp100(Pmel 17)、酪氨酸酶、TRP-1、TRP-2;以及肿瘤特异性多谱系抗原,例如MAGE-1、MAGE-3、BAGE、GAGE-1、GAGE-2、p15;过表达的胚胎抗原,例如CEA;过表达的癌基因和突变的肿瘤抑制基因,例如p53、Ras、HER-2/neu;由染色体易位造成的独特的肿瘤抗原,例如BCR-ABL、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RAR;以及病毒抗原,例如EB病毒(Epstein Barr virus)抗原EBVA和人乳头瘤病毒(human papillomavirus,HPV)抗原E6和E7。其他基于蛋白质的大抗原包括TSP-180、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6、RAGE、NY-ESO、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H1、PSA、TAG-72、CA 19-9、CA 72-4、CAM 17.1、NuMa、K-ras、β-联蛋白、CDK4、Mum-1、p15、p16、43-9F、5T4、791Tgp72、α-甲胎蛋白、β-HCG、BCA225、BTAA、CA 125、CA 15-3\CA 27.29\BCAA、CA 195、CA 242、CA-50、CAM43、CD68\P1、CO-029、FGF-5、G250、Ga733\EpCAM、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90\Mac-2结合蛋白\亲环蛋白C-相关蛋白、TAAL6、TAG72、TLP和TPS。

[0121] 在一个实施方案中,CAR的抗原结合结构域部分靶向包括但不限于以下的抗原:CD19、CD20、CD22、ROR1、CD33、c-Met、PSMA、糖脂F77、EGFRvIII、GD-2、MY-ESO-1 TCR、MAGE A3 TCR等。

[0122] 在一个优选实施方案中,CAR的抗原结合结构域部分靶向胞外BCMA抗原。

[0123] 在一个优选实施方案中,编码胞外BCMA ScFv克隆5 D0084抗原结合结构域的分离的核酸分子包含SEQ ID NO:9的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA ScFv克隆5 D0084抗原结合结构域包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:10的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0124] 在一个优选实施方案中,编码胞外BCMA ScFv克隆16 D0085抗原结合结构域的分离的核酸分子包含SEQ ID NO:17的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA ScFv克隆16 D0085抗原结合结构域包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:18的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0125] 在一个优选实施方案中,编码胞外BCMA ScFv克隆37 D0086抗原结合结构域的分离的核酸分子包含SEQ ID NO:23的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA ScFv克隆37D0086抗原结合结构域包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0126] 在一个优选实施方案中,编码胞外BCMA ScFv克隆40 D0087抗原结合结构域的分离的核酸分子包含SEQ ID NO:69的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA ScFv克隆40 D0087抗原结合结构域包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:70的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0127] 在一个优选实施方案中,编码胞外BCMA ScFv克隆4-12 D0099抗原结合结构域的分离的核酸分子包含SEQ ID NO:75的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA ScFv克隆4-12 D0099抗原结合结构域包含SEQ ID NO:76的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:76的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0128] 在一个优选实施方案中,编码胞外BCMA ScFv克隆4-45 D0100抗原结合结构域的分离的核酸分子包含SEQ ID NO:77的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外BCMA ScFv克隆4-45 D0100抗原结合结构域包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:78的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0129] 在一个优选实施方案中,编码胞外4-1c VH抗原结合结构域的分离的核酸分子包含SEQ ID NO:103的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外4-1c VH抗原结合结构域包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:104的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0130] 在一个优选实施方案中,编码胞外4-1c VL抗原结合结构域的分离的核酸分子包

含SEQ ID NO:105的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外4-1c VL抗原结合结构域包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:106的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0131] 在一个优选实施方案中,编码胞外TGFBRIIdn结构域的分离的核酸分子包含SEQ ID NO:109的核苷酸序列,或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列。在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的胞外TGFBRIIdn结构域包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:110的氨基酸序列具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。

[0132] 实施例1中示出了本文中所述的特异性BCMA ScFv抗原结合片段的产生和结合特性。

[0133] 在本文中所公开的BCMA特异性CAR的多个实施方案中,通用方案在图1中示出,并且从N端到C端包含信号或前导肽、抗BCMA ScFv、胞外接头、CD8跨膜、4-1BB、CD3ζ,其中粗体文本表示用于连接结构域的克隆位点。

[0134] 在一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:87的核酸序列,并且编码包含SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列的CAR。

[0135] 在一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:87的核酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列,并且编码包含SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的CAR。

[0136] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:89的核酸序列,并且编码包含SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列的CAR。

[0137] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:89的核酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列,并且编码包含SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的CAR。

[0138] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:91的核酸序列,并且编码包含SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列的CAR。

[0139] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:91的核酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列,并且编码包含SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的CAR。

[0140] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:93的核酸序列,并且编码包含SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列的CAR。

[0141] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:93的核酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列,并且编码包含SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的CAR。

[0142] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:95的核酸序列,并且编码包含SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列的CAR。

[0143] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:95的核酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列,并且编码包含SEQ ID NO:96所示的氨基酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的CAR。

[0144] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:97的核酸序列,并且编码包含SEQ ID NO:98所示的氨基酸序列的CAR。

[0145] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:99的核酸序列,并且编码包含SEQ ID NO:100所示的氨基酸序列的CAR。

[0146] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:101的核酸序列,并且编码包含SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列的CAR。

[0147] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:97的核酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列,并且编码包含SEQ ID NO:98所示的氨基酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的CAR。

[0148] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:99的核酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列,并且编码包含SEQ ID NO:100所示的氨基酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的CAR。

[0149] 在另一个实施方案中,编码CAR的核酸序列包含SEQ ID NO:101的核酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列,并且编码包含SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列或与其具有85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的序列的CAR。

[0150] 并入了与BCMA抗原反应的免疫球蛋白单链可变片段(ScFv)序列的抗BCMA CAR的表面表达在下文的实施例2中示出。每个含有ScFv的CAR的表达水平通过使用重组BCMA-Fc肽随后是与AF647缀合的抗人FcF(ab')2片段对来自健康供体的经LV转导的T细胞进行流式细胞术分析并且在APC通道中检测来确定的(参见实施例2,图2)。或者,使用蛋白质L-生物素缀合物随后是链霉亲和素-PE进行CAR检测,结果相似(实施例2,图2)。使用BCMA-Fc染色方法对被选择以用于进一步研究的构建体的CAR表达进行进一步确认(实施例2,图4)。除序列15 CAR构建体之外,所有抗BCMA CAR构建体都在T细胞表面容易地检测到,这表明稳健的CAR表达。相比之下,在阴性对照未经转导T细胞(UTD)中未检测到CAR表达,因此表明了所使用的检测方法的特异性(参见实施例2,图2、图4)。

[0151] 不旨在限于任何特定作用机理,认为与本发明的示例性CAR相关的增强的治疗性功能的可能原因包括,例如但不限于:a)改善了质膜内的横向运动从而允许更有效的信号转导,b)在质膜微结构域(例如脂筏)内的优异位置,以及与和T细胞活化相关的跨膜信号传导级联相互作用的更大能力,c)通过优先移动远离抑制性(dampening)或下调性的相互作用(例如与磷酸酶(例如CD45)的接近性或相互作用较低)而在质膜内的优异位置,以及d)优异组装成T细胞受体信号传导复合体(即免疫突触),或其任意组合。

[0152] 尽管已用示例性的胞外BCMA ScFv抗原结合结构域举例说明了本公开内容,但是BCMA可变ScFv抗原结合结构域内的其他核苷酸和/或氨基酸变体可用于得到在本文中所述

CAR中使用的BCMA抗原结合结构域。

[0153] 根据待靶向的期望抗原,CAR可被另外改造成包含对期望的抗原靶标具有特异性的合适抗原结合结构域。例如,如果CD19是待靶向的期望抗原,则可将针对CD19的抗体用作并入到CAR中的抗原结合结构域。

[0154] 在一个示例性的实施方案中,CAR的抗原结合结构域部分还靶向CD19。优选地,CAR中的抗原结合结构域是抗CD19 ScFv,其中抗CD19 ScFv的核酸序列包含SEQ ID NO:37所示的序列。在一个实施方案中,抗CD19 ScFv包含编码SEQ ID NO:30的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,CAR的抗CD19 ScFv部分包含SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列。

[0155] 在本发明的一个方面中,提供了能够与非TSA或非TAA结合的CAR,所述非TSA或非TAA包括例如但不限于来源于以下的抗原:逆转录病毒科(例如,人类免疫缺陷病毒,例如HIV-1和HIV-LP)、小核糖核酸病毒科(例如,脊髓灰质炎病毒、甲型肝炎病毒、肠病毒、人柯萨奇病毒、鼻病毒和艾柯病毒)、风疹病毒、冠状病毒、水疱性口炎病毒、狂犬病病毒、埃博拉病毒、副流感病毒、腮腺炎病毒、麻疹病毒、呼吸道合胞病毒、流感病毒、乙型肝炎病毒、细小病毒、腺病毒科、疱疹病毒科[例如1型和2型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus,HSV)、水痘-带状疱疹病毒、巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV)和疱疹病毒]、痘病毒科(例如,天花病毒、痘苗病毒和痘病毒)或丙型肝炎病毒,或其任意组合。

[0156] 在本发明的另一个方面中,提供了能够与来自以下的细菌菌株的抗原结合的CAR:葡萄球菌(Staphylococci)、链球菌(Streptococcus)、大肠杆菌(Escherichia coli)、假单胞菌(Pseudomonas)或沙门氏菌(Salmonella)。特别地,提供了能够与来自感染性细菌的抗原结合的CAR,所述感染性细菌例如幽门螺杆菌(Helicobacter pyloris)、嗜肺军团菌(Legionella pneumophilia)、分枝杆菌属(Mycobacteria sp.)的细菌菌株(例如,结核分枝杆菌(M.tuberculosis)、鸟分枝杆菌(M.avium)、胞内分枝杆菌(M.intracellulare)、堪萨斯分枝杆菌(M.kansaii)或戈登分枝杆菌(M.gordonea))、金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)、淋病奈瑟菌(Neisseria gonorrhoeae)、脑膜炎奈瑟菌(Neisseria meningitides)、单核细胞增生李斯特菌(Listeria monocytogenes)、化脓性链球菌(Streptococcus pyogenes)、A组链球菌(Group A Streptococcus)、B组链球菌(无乳链球菌(Streptococcus agalactiae))、肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)或破伤风梭菌(Clostridium tetani),或其组合。

[0157] 2.跨膜结构域

[0158] 关于跨膜结构域,CAR包含一个或更多个与CAR的胞外BCMA抗原结合结构域融合的跨膜结构域。

[0159] 跨膜结构域可来源于天然或合成来源。当来源是天然的时,该结构域可来源于任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。

[0160] 特别用于本文中所述的CAR的跨膜区可来源于以下(即,至少包含其跨膜区):T细胞受体的α、β或ζ链,CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、间皮素、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154。或者,跨膜结构域可以是合成的,在这种情况下,其将主要包含疏水性残基,例如亮氨酸和缬氨酸。优选地,苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三联体将存在于合成跨膜结构域的每个末端。任选地,短的寡肽接头或多肽接头(优选地长度为2至10个氨基酸)可在CAR的跨膜结构域与胞质信号传导结构域之间形成连接。甘氨酸-丝氨

酸双联体提供特别合适的接头。

[0161] 在一个实施方案中,除上述跨膜结构域之外,还使用天然与CAR中结构域之一缔合的跨膜结构域。

[0162] 在一些情况下,可通过氨基酸替换对跨膜结构域进行选择以避免这样的结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合从而使与受体复合体的其他成员的相互作用最小化。

[0163] 在一个实施方案中,本发明CAR中的跨膜结构域是CD8跨膜结构域。在一个实施方案中,CD8跨膜结构域包含SEQ ID NO:27的核酸序列。在一个实施方案中,CD8跨膜结构域包含编码SEQ ID NO:28的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,CD8跨膜结构域包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

[0164] 在一个实施方案中,所编码的跨膜结构域包含具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如,替换)但不超过20、10或5个修饰(例如,替换)的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:28的氨基酸序列具有95%至99%同一性的序列。

[0165] 在一些情况下,CAR的跨膜结构域包含CD8.α.铰链结构域。在一个实施方案中,CD8铰链结构域包含SEQ ID NO:29的核酸序列。在一个实施方案中,CD8铰链结构域包含编码SEQ ID NO:30的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,CD8铰链结构域包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列,或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0166] 在一个实施方案中,提供了分离的核酸分子,其中所编码的接头结构域来源于CD8的胞外结构域,并且与跨膜CD8结构域、跨膜CD28结构域,或其组合连接。

[0167] 在一个实施方案中,本发明CAR中的跨膜结构域是TNFRSF19跨膜结构域。在一个实施方案中,TNFRSF19跨膜结构域包含SEQ ID NO:51的核酸序列。在一个实施方案中,TNFRSF19跨膜结构域包含编码SEQ ID NO:52的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,TNFRSF19跨膜结构域包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列。

[0168] 在一个实施方案中,所编码的跨膜结构域包含具有SEQ ID NO:52的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如,替换)但不超过20、10或5个修饰(例如,替换)的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:52的氨基酸序列具有95%至99%同一性的序列。

[0169] 3.间隔区结构域

[0170] 在CAR中,可在胞外结构域与跨膜结构域之间,或在胞内结构域与跨膜结构域之间布置间隔区结构域,也称为铰链结构域。间隔区结构域意指用于将跨膜结构域与胞外结构域和/或跨膜结构域与胞内结构域连接的任何寡肽或多肽。间隔区结构域包含多至300个氨基酸,优选10至100个氨基酸,且最优选25至50个氨基酸。

[0171] 在数个实施方案中,接头可包含间隔区元件,其在存在时增大接头的大小,使得效应分子或可检测标志物与抗体或抗原结合片段之间的距离增大。示例性间隔区是普通技术人员已知的,并包括在美国专利No.7,964,5667、498,298、6,884,869、6,323,315、6,239,104、6,034,065、5,780,588、5,665,860、5,663,149、5,635,483、5,599,902、5,554,725、5,530,097、5,521,284、5,504,191、5,410,024、5,138,036、5,076,973、4,986,988、4,978,744、4,879,278、4,816,444和4,486,414以及美国专利公开No.20110212088和20110070248中所列出的那些,其各自通过引用整体并入本文。

[0172] 间隔区结构域优选具有促进CAR与抗原结合并增强信号传导进入细胞的序列。预

期促进结合的氨基酸的一些实例包括半胱氨酸、带电荷的氨基酸以及潜在的糖基化位点中的丝氨酸和苏氨酸,并且这些氨基酸可用作构成间隔区结构域的氨基酸。

[0173] 作为间隔区结构域,可使用以下的全部或一部分:CD8.α.(NCBI RefSeq:NP.sub.--001759.3)的第118至178位氨基酸(其为铰链区)(SEQ ID NO:31),CD8.β.(GenBank:AAA35664.1)的第135至195位氨基酸,CD4(NCBI RefSeq:NP.sub.--000607.1)的第315至396位氨基酸,或CD28(NCBI RefSeq:NP.sub.--006130.1)的第137至152位氨基酸。此外,作为间隔区结构域,可使用抗体H链或L链的恒定区的一部分(CH1区或CL区,例如,具有SEQ ID NO:32所示氨基酸序列的肽)。此外,间隔区结构域可以是人工合成的序列。

[0174] 另外,可使用包含人IgG4(UniProt ID:P01861)恒定区的氨基酸的全部或部分,其包含CHI(第1至98位氨基酸)、铰链(SEQ ID NO:80,和相应核苷酸SEQ ID NO:79)(第99至110位氨基酸)、CH2(氨基酸SEQ ID NO:81和相应核苷酸SEQ ID NO:80)(第111至220位氨基酸)和CH3(SEQ ID NO:84和相应核苷酸SEQ ID NO:83)(第221至327位氨基酸)或其组合,例如IgG4铰链CH2 CH3结构域(SEQ ID NO:86和相应核苷酸SEQ ID NO:85)。

[0175] 在一个实施方案中,CAR的间隔区结构域包含TNFRSF19铰链结构域,其包含SEQ ID NO:53的核酸序列。在一个实施方案中,TNFRSF19铰链结构域包含编码SEQ ID NO:54的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,TNFRSF19铰链结构域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0176] 在一个实施方案中,CAR的间隔区结构域包含TNFRSF19截短的铰链结构域,其包含SEQ ID NO:55的核酸序列。在一个实施方案中,TNFRSF19截短的铰链结构域包含编码SEQ ID NO:56的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,TNFRSF19截短的铰链结构域包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0177] 在一个实施方案中,TNFRSF19铰链和跨膜结构域包含SEQ ID NO:49的核酸序列。在一个实施方案中,TNFRSF19铰链和跨膜结构域包含编码SEQ ID NO:50的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,TNFRSF19铰链和跨膜结构域包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0178] 在一个实施方案中,CD8a铰链结构域与TNFRSF19跨膜结构域融合,其包含SEQ ID NO:57的核酸序列。在一个实施方案中,CD8a铰链结构域与TNFRSF19跨膜结构域融合,其包含编码SEQ ID NO:58的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,CD8a铰链结构域与TNFRSF19跨膜结构域融合,其包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0179] 另外,在CAR中,信号肽序列(也称为前导肽)可与N端连接。信号肽序列存在于许多分泌蛋白和膜蛋白的N端,并且长度为15至30个氨基酸。由于上文作为胞内结构域提及的很多蛋白质分子均具有信号肽序列,因此这些信号肽可用作CAR的信号肽。在一个实施方案中,信号肽包含SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列)。

[0180] 在一个实施方案中,CD8α前导肽包含SEQ ID NO:43的核酸序列。在一个实施方案中,CD8α前导肽包含编码SEQ ID NO:44的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,CD8a铰链结构域与TNFRSF19跨膜结构域融合,其包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0181] 在另一个实施方案中,GMCSF前导肽包含SEQ ID NO:39的核酸序列。在一个实施方

案中,GMCSF前导肽包含编码SEQ ID NO:40的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,CD8a铰链结构域与TNFRSF19跨膜结构域融合,其包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0182] 在另一个实施方案中,TNFRSF19前导肽包含SEQ ID NO:41的核酸序列。在一个实施方案中,TNFRSF19前导肽和CD8α前导肽包含编码SEQ ID NO:42的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,CD8a铰链结构域与TNFRSF19跨膜结构域融合,其包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0183] 在一个实施方案中,编码表皮生长因子受体的截短序列(tEGFR)的标签序列包含SEQ ID NO:67的核酸序列。在一个实施方案中,tEGFR包含编码SEQ ID NO:68的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,tEGFR标签包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列,或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0184] 在一个实施方案中,设计用于标签序列和CAR序列的同时双顺反子表达的弗林蛋白酶识别位点和下游T2A自切割肽序列包含SEQ ID NO:65的核酸序列。在一个实施方案中,弗林蛋白酶和T2A序列包含编码SEQ ID NO:66的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,tEGFR标签包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0185] 在一个实施方案中,设计用于标签序列和CAR序列的同时双顺反子表达的上游弗林蛋白酶识别位点和T2A自切割肽序列以及弗林蛋白酶识别下游位点包含SEQ ID NO:67的核酸序列。在一个实施方案中,弗林蛋白酶和T2A序列包含编码SEQ ID NO:68的氨基酸序列的核酸序列。在另一个实施方案中,tEGFR标签包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列或与其具有95%至99%同一性的序列。

[0186] 在一个实施方案中,CAR的靶向结构域以单克隆抗体、ScFv Fab、Fab'2的形式单独表达,并且包含在结合标签或表位,而CAR的效应细胞表达组分包含结合结构域,所述结合结构域被特异性地针对以结合可溶性CAR模块上表达的标签或表位,例如CAR的可溶性组分与细胞结合组分的特异性结合形成完整的功能性CAR结构。

[0187] 4.胞内结构域

[0188] CAR的胞质结构域或其他胞内信号传导结构域负责活化其中已置入CAR的免疫细胞的至少一种正常效应物功能。术语"效应物功能"是指细胞的专门功能。例如,T细胞的效应物功能可以是细胞裂解活性或辅助活性,包括细胞因子的分泌。因此,术语"胞内信号传导结构域"是指转导效应物功能信号并指导细胞执行专门功能的蛋白质的部分。尽管通常可使用整个胞内信号传导结构域,但在许多情况下不必使用整个链。就使用胞内信号传导结构域的截短部分而言,只要其转导效应物功能信号,就可使用这样的截短部分代替完整链。因此,术语胞内信号传导结构域意在包括足以转导效应物功能信号的胞内信号传导结构域的任何截短部分。

[0189] 用于CAR的胞内信号传导结构域的一些优选实例包括T细胞受体(TCR)和共同受体的胞质序列,其在抗原受体接合后共同发挥作用以引发信号转导;以及具有相同功能能力的这些序列的任何衍生物或变体以及任何合成序列。

[0190] 已知仅通过TCR产生的信号不足以完全活化T细胞并且还需要次级信号或共刺激信号。因此,可以说T细胞活化是由两种不同种类的胞质信号传导序列介导的:通过TCR引发抗原依赖性初级活化的那些(初级胞质信号传导序列)和以抗原非依赖性方式发挥作用以

提供次级信号或共刺激信号的那些(次级胞质信号传导序列)。

[0191] 初级胞质信号传导序列以刺激性方式或以抑制性方式调节TCR复合体的初级活化。以刺激性方式发挥作用的初级胞质信号传导序列可包含被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。

[0192] 特别用于本文中公开的CAR中的包含初级胞质信号传导序列的ITAM的一些实例包括来源于以下的那些:TCRζ(CD3ζ)、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b和CD66d。ITAM的一些具体的非限制性实例包括具有以下序列的肽:CD3.ζ.(NCBI RefSeq:NP.sub.--932170.1)的第51至164位氨基酸,Fc.ε.RI.γ(NCBI RefSeq:NP.sub.--004097.1)的第45至86位氨基酸,Fc.ε.RI.β(NCBI RefSeq:NP.sub.--000130.1)的第201至244位氨基酸,CD3.γ.(NCBI RefSeq:NP.sub.--000064.1)的第139至182位氨基酸,CD3.δ.(NCBI RefSeq:NP.sub.--000723.1)的第128至171位氨基酸,CD3.ε.(NCBI RefSeq:NP.sub.--000724.1)的第153至207位氨基酸,CD5(NCBI RefSeq:NP.sub.--055022.2)的第402至495位氨基酸,0022(NCBI RefSeq:NP.sub.--001762.2)的第707至847位氨基酸,CD79a(NCBI RefSeq:NP.sub.--001774.1)的第166至226位氨基酸,CD79b(NCBI RefSeq:NP.sub.--000617.1)的第182至229位氨基酸,以及CD66d(NCBI RefSeq:NP.sub.--001806.2)的第177至252位氨基酸,及其与这些肽具有相同功能的变体。基于本文中所述的NCBI RefSeq ID或GenBank的氨基酸序列信息的氨基酸号是基于每种蛋白质的前体(包含信号肽序列等)的全长进行编号的。在一个实施方案中,CAR中的胞质信号传导分子包含来源于CD3ζ的胞质信号传导序列。

[0193] 在一个优选的实施方案中,可将CAR的胞内结构域设计成自身包含CD3-ζ信号传导结构域,或者将其与在CAR的情况下可用的任何其他期望的胞质结构域组合。例如,CAR的胞内结构域可包含CD3ζ链部分和共刺激信号传导区域。共刺激信号传导区域是指包含共刺激分子的胞内结构域的CAR的一部分。共刺激分子是淋巴细胞对抗原的有效应答所需的除抗原受体或其配体以外的细胞表面分子。这样的共刺激分子的一些实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1,LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3和与CD83特异性结合的配体等。这样的共刺激分子的一些具体的非限制性实例包括具有以下序列的肽:CD2(NCBI RefSeq:NP.sub.--001758.2)的236至351位氨基酸,CD4(NCBI RefSeq:NP.sub.--000607.1)的第421至458位氨基酸,CD5(NCBI RefSeq:NP.sub.--055022.2)的第402至495位氨基酸,CD8.α.(NCBI RefSeq:NP.sub.--001759.3)的第207至235位氨基酸,CD83(GenBank:AAA35664.1)的第196至210位氨基酸,CD28(NCBI RefSeq:NP.sub.--006130.1)的第181至220位氨基酸,CD137(4-IBB,NCBI RefSeq:NP.sub.--001552.2)的第214至255位氨基酸,CD134(OX40,NCBI RefSeq:NP.sub.--003318.1)的第241至277位氨基酸和ICOS(NCBI RefSeq:NP.sub.--036224.1)的第166至199位氨基酸,及其与这些肽具有相同功能的变体。因此,尽管本文中的公开内容主要以4-1BB作为共刺激信号传导元件来举例说明,但其他共刺激元件也在本公开内容的范围内。

[0194] CAR的胞质信号传导部分内的胞质信号传导序列可以以随机或特定的顺序相互连接。任选地,短的寡肽接头或多肽接头(优选地长度为2至10个氨基酸)可形成连接。甘氨酸-丝氨酸双联体提供特别合适的接头。

[0195] 在一个实施方案中,胞内结构域被设计成包含CD3-ζ的信号传导结构域和CD28的信号传导结构域。在另一个实施方案中,胞内结构域被设计成包含CD3-ζ的信号传导结构域和4-1BB的信号传导结构域。在另一个实施方案中,胞内结构域被设计成包含CD3-ζ的信号传导结构域以及CD28和4-1BB的信号传导结构域。

[0196] 在一个实施方案中,CAR中的胞内结构域被设计成包含4-1BB的信号传导结构域和CD3-ζ的信号传导结构域,其中4-1BB的信号传导结构域包含分别在SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:59中所示的核酸序列并且CD3-ζ的信号传导结构域包含分别在SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:61中所示的核酸序列。

[0197] 在一个实施方案中,CAR中的胞内结构域被设计成包含4-1BB的信号传导结构域和CD3-ζ的信号传导结构域,其中4-1BB的信号传导结构域包含分别编码SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:46或SEQ ID NO:60的氨基酸序列的核酸序列并且CD3-ζ的信号传导结构域包含编码SEQ ID NO:36或SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:62的氨基酸序列的核酸序列。

[0198] 在一个实施方案中,CAR中的胞内结构域被设计成包含4-1BB的信号传导结构域和CD3-ζ的信号传导结构域,其中4-1BB的信号传导结构域包含分别在SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:46或SEQ ID NO:60中所示的氨基酸序列并且CD3-ζ的信号传导结构域包含分别在SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:62中所示的氨基酸序列。

[0199] 在一个实施方案中,CAR中的胞内结构域被设计成包含CD28的信号传导结构域和CD3-ζ的信号传导结构域,其中CD28的信号传导结构域包含分别在SEQ ID NO:45或SEQ ID NO:59中所示的核酸序列,并且CD3-ζ的信号传导结构域包含分别在SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:47或SEQ ID NO:61中所示的核酸序列。

[0200] 在一个实施方案中,CAR中的胞内结构域被设计成包含CD28的信号传导结构域和CD3-ζ的信号传导结构域,其中CD28的信号传导结构域包含分别编码SEQ ID NO:46或SEQ ID NO:60的氨基酸序列的核酸序列,并且CD3-ζ的信号传导结构域包含编码SEQ ID NO:36、或SEQ ID NO:48、或SEQ ID NO:62的氨基酸序列的核酸序列。

[0201] 在一个实施方案中,CAR中的胞内结构域被设计成包含CD28的信号传导结构域和CD3-ζ的信号传导结构域,其中CD28的信号传导结构域包含分别在SEQ ID NO:46或SEQ ID NO:60中所示的氨基酸序列,并且CD3-ζ的信号传导结构域包含分别在SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:48或SEQ ID NO:62中所示的氨基酸序列。

[0202] 5.CAR的另外的描述

[0203] 本发明范围内还明确包括本文中公开的CAR的功能性部分。当在提及CAR使用时,术语“功能性部分”是指本文中所公开的一个或更多个CAR的任何部分或片段,所述部分或片段保留其作为部分的CAR(亲本CAR)的生物学活性。功能性部分涵盖例如保留与亲本CAR在相似程度上或在相同程度上或在更高程度上识别靶细胞或检测、治疗或预防疾病的能力的那些CAR部分。根据亲本CAR,功能性部分可包含例如亲本CAR的约10%、25%、30%、50%、68%、80%、90%、95%或更多。

[0204] 功能性部分可在该部分的氨基端或羧基端或在两端包含另外的氨基酸,所述另外的氨基酸不存在于亲本CAR的氨基酸序列中。期望地,另外的氨基酸不干扰功能性部分的生物学功能,例如识别靶细胞、检测癌症、治疗或预防癌症等。更期望地,与亲本CAR的生物学活性相比,另外的氨基酸增强了生物学活性。

[0205] 本公开内容的范围内包括本文中公开的CAR的功能性变体。本文中使用的术语“功能性变体”是指与亲本CAR具有实质或显著序列同一性或相似性的CAR、多肽或蛋白质,所述功能性变体保留其作为变体的CAR的生物学活性。功能性变体涵盖例如保留与亲本CAR在相似程度、相同程度或更高程度上识别靶细胞的能力的本文中所述的CAR(亲本CAR)的那些变体。根据亲本CAR,功能性变体可例如与亲本CAR在氨基酸序列方面具有至少约30%、50%、75%、80%、90%、98%或更多的同一性。

[0206] 功能性变体可例如包含具有至少一个保守氨基酸替换的亲本CAR的氨基酸序列。作为替代或补充,功能性变体可包含具有至少一个非保守氨基酸替换的亲本CAR的氨基酸序列。在这种情况下,优选地非保守氨基酸替换不干扰或抑制功能性变体的生物学活性。非保守氨基酸替换可增强功能性变体的生物学活性,以使得与亲本CAR相比,功能性变体的生物学活性提高。

[0207] CAR的氨基酸替换优选为保守氨基酸替换。保守氨基酸替换是本领域中已知的,并且包括其中具有某些物理和/或化学特性的一个氨基酸被交换为具有相同或相似化学或物理特性的另一个氨基酸的氨基酸替换。例如,保守氨基酸替换可以是酸性/带负电荷的极性氨基酸替换另一个酸性/带负电荷的极性氨基酸(例如,Asp或Glu),具有非极性侧链的氨基酸替换另一个具有非极性侧链的氨基酸(例如,Ala、Gly、Val、He、Leu、Met、Phe、Pro、Trp、Cys、Val等),碱性/带正电荷的极性氨基酸替换另一个碱性/带正电荷的极性氨基酸(例如,Lys、His、Arg等),具有极性侧链的不带电荷的氨基酸替换另一个具有极性侧链的不带电荷的氨基酸(例如,Asn、Gin、Ser、Thr、Tyr等),具有β分支侧链的氨基酸替换另一个具有β分支侧链的氨基酸(例如,He、Thr和Val),具有芳香族侧链的氨基酸替换另一个具有芳香族侧链的氨基酸(例如,His、Phe、Trp和Tyr)等。

[0208] CAR可基本上由本文中所述的特定氨基酸序列组成,使得其他组分(例如其他氨基酸)不会实质上改变功能性变体的生物学活性。

[0209] CAR(包括功能性部分和功能性变体)可具有任何长度,即,可包含任何数目的氨基酸,前提是CAR(或其功能性部分或功能性变体)保留其生物学活性,例如,与抗原特异性结合、检测哺乳动物中的患病细胞、或者在哺乳动物中治疗或预防疾病等的能力。例如,CAR的长度可以为约50至约5000个氨基酸,例如长度为50、70、75、100、125、150、175、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或更多个氨基酸。

[0210] CAR(包括本发明的功能性部分和功能性变体)可包含合成氨基酸以代替一种或更多种天然存在的氨基酸。这样的合成氨基酸是本领域中已知的,并且包括例如氨基环己烷羧酸、正亮氨酸、-氨基正癸酸、高丝氨酸、S-乙酰氨基甲基-半胱氨酸、反式-3-羟基脯氨酸和反式-4-羟基脯氨酸、4-氨基苯丙氨酸、4-硝基苯丙氨酸、4-氯苯丙氨酸、4-羧基苯丙氨酸、β-苯基丝氨酸、β-羟基苯丙氨酸、苯基甘氨酸、α-萘基丙氨酸、环己基丙氨酸、环己基甘氨酸、二氢吲哚-2-羧酸、1,2,3,4-四氢异喹啉-3-羧酸、氨基丙二酸、氨基丙二酸单酰胺、N’-苄基-N’-甲基-赖氨酸、N’,N’-二苄基-赖氨酸、6-羟基赖氨酸、鸟氨酸、-氨基环戊烷羧酸、α-氨基环己烷羧酸、α-氨基环庚烷羧酸、α-(2-氨基-2-降莰烷)-羧酸、γ-二氨基丁酸、β-二氨基丙酸、高苯丙氨酸和α-叔丁基甘氨酸。

[0211] 可将CAR(包括功能性部分和功能性变体)糖基化、酰胺化、羧化、磷酸化、酯化、N-酰化、环化(通过例如二硫桥)或转化成酸加成盐和/或任选地二聚化或多聚化或缀合。

[0212] 可通过本领域中已知的方法获得CAR(包括其功能性部分和功能性变体)。CAR可通过制备多肽或蛋白质的任何合适的方法制备。从头合成多肽和蛋白质的合适方法描述于参考文献中,例如Chan等,Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis,Oxford University出版社,Oxford,United Kingdom,2000;Peptide and Protein Drug Analysis,编辑,Reid,R.,Marcel Dekker,Inc.,2000;Epitope Mapping,编辑,Westwood等,Oxford University出版社,Oxford,United Kingdom,2001;以及美国专利5,449,752。另外,可使用本文中所述的核酸使用标准重组方法重组产生多肽和蛋白质。参见,例如Sambrook等,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第3版.,Cold Spring Harbor出版社,Cold Spring Harbor,NY 2001;和Ausubel等,Current Protocols in Molecular Biology,Greene Publishing Associates and John Wiley&Sons,NY,1994。另外,一些CAR(包括其功能性部分和功能性变体)可从例如植物、细菌、昆虫、哺乳动物(例如,大鼠、人)等的来源分离和/或纯化。分离和纯化的方法是本领域中公知的。或者,本文中所述的CAR(包括其功能性部分和功能性变体)可由公司商业化合成。在这方面中,CAR可以是合成的、重组的、分离的和/或纯化的。

[0213] B.抗体和抗原结合片段

[0214] 一个实施方案还提供了与本文中公开的一种或更多种抗原特异性结合的CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合结构域或部分。本文中使用的“表达CAR的T细胞”或“CAR T细胞”意指表达CAR的T细胞,并且具有通过例如CAR的抗体来源的靶向结构域确定的抗原特异性。

[0215] 本文中使用的“抗原结合结构域”可包括抗体及其抗原结合片段。术语“抗体”在本文中以最广泛的含义使用,并且涵盖多种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如,双特异性抗体)及其抗原结合片段,只要它们显示出所期望的抗原结合活性即可。抗体的一些非限制性实例包括例如保留对抗原的结合亲和力的本领域中已知的完整的免疫球蛋白及其变体和片段。

[0216] “单克隆抗体”是从基本上同质的抗体的群获得的抗体,即,除了可能以少量存在的天然存在的突变以外,包含该群的个体抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,其针对单个抗原表位。修饰语“单克隆”表示如从基本上同质的抗体群获得的抗体的特征,并且不被解释为需要通过任何特定方法产生抗体。在一些实例中,单克隆抗体是由B淋巴细胞的单克隆或已经被编码单个抗体(或其抗原结合片段)的抗体轻链和重链可变区的核酸转染的细胞或其后代产生的抗体。在一些实例中,从对象中分离单克隆抗体。单克隆抗体可具有保守氨基酸替换,其对抗原结合或其他免疫球蛋白功能基本无影响。生产单克隆抗体的示例性方法是已知的,例如,参见Harlow&Lane,Antibodies,A Laboratory Manual,第2版.Cold Spring Harbor Publications,New York(2013)。

[0217] 通常来说,免疫球蛋白具有通过二硫键相互连接的重链(H)和轻链(L)。免疫球蛋白基因包括κ、λ、α、γ、δ、ε和μ恒定区基因以及众多的免疫球蛋白可变结构域基因。存在两种类型的轻链,lambda(λ)和kappa(κ)。存在决定抗体分子之功能活性的五种主要的重链种类(或同种型):IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。

[0218] 每条重链和轻链包含恒定区(或恒定结构域)和可变区(或可变结构域;参见,例如Kindt等Kuby Immunology,第6版,W.H.Freeman和Co.,第91页(2007))。在数个实施方案中,重链和轻链可变区组合以特异性地结合抗原。在另外的一些实施方案中,仅需要重链可变

区。例如,仅由重链组成的天然存在的骆驼科(camelid)抗体在不存在轻链的情况下是有功能且稳定的(参见,例如,Hamers-Casterman等,Nature,363:446-448,1993;Sheriff等,Nat.Struct.Biol.,3:733-736,1996)。提及“VH”或“VH”是指抗体重链的可变区,包括抗原结合片段,例如Fv、ScFv、dsFv或Fab的可变区。提及“VL”或“VL”是指抗体轻链的可变结构域,包括Fv、ScFv、dsFv或Fab的可变结构域。

[0219] 轻链和重链可变区包含被三个高变区(也称为“互补决定区”或“CDR”)中断的“框架”区(参见,例如,Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,U.S.Department of Health and Human Services,1991)。不同轻链或重链的框架区的序列在物种内是相对保守的。抗体的框架区(即成分轻链和重链的组合框架区)用于在三维空间中定位和对齐CDR。

[0220] CDR主要负责与抗原的表位结合。给定CDR的氨基酸序列边界可使用许多公知的方案中的任一种来容易地确定,包括由以下描述的那些:Kabat等(“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,1991;“Kabat”编号方案)、Al-Lazikani等(JMB 273,927-948,1997;“Chothia”编号方案)和Lefranc等(“IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,”Dev.Comp.Immunol.,27:55-77,2003;“IMGT”编号方案)。每条链的CDR通常被称为CDR1、CDR2和CDR3(从N端至C端),并且通常也由其中特定CDR所定位的链来鉴定。因此,VH CDR3是来自其中存在它的抗体的重链的可变结构域的CDR3,而VL CDR1是来自其中存在它的抗体的轻链的可变结构域的CDR1。轻链CDR有时被称为LCDR1、LCDR2和LCDR3。重链CDR有时被称为HCDR1、HCDR2和HCDR3。

[0221] “抗原结合片段”是保留了特异性识别同源抗原之能力的全长抗体的一部分以及这样的部分的多种组合。抗原结合片段的一些非限制性实例包括Fv、Fab、Fab’、Fab’-SH、F(ab’)2;双抗体(diabody);线性抗体;单链抗体分子(例如,ScFv);以及由抗体片段形成的多特异性抗体。抗体片段包括通过修饰完整抗体产生的抗原结合片段或使用重组DNA方法从头合成的那些(参见,例如,Kontermann和Dubel(编辑),Antibody Engineering,第1至2卷,第2版,Springer出版社,2010)。

[0222] 单链抗体(ScFv)是包含作为遗传融合的单链分子的通过合适的多肽接头连接的一个或更多个抗体的VH和VL结构域的经遗传改造的分子(参见,例如,Bird等,Science,242:423426,1988;Huston等,Proc.Natl.Acad.Sci.,85:5879 5883,1988;Ahmad等,Clin.Dev.Immunol.,2012,doi:10.1155/2012/980250;Marbry,IDrugs,13:543-549,2010)。ScFv中的VH结构域和VL结构域的分子内取向对于ScFv通常不是决定性的。因此,可使用具有这两种可能的排列(VH结构域-接头结构域-VL结构域;VL结构域-接头结构域-VH结构域)的ScFv。

[0223] 在dsFv中,重链和轻链可变链已突变以引入二硫键从而使链的缔合稳定化。还包括双抗体,其是二价双特异性抗体,其中VH和VL结构域在单个多肽链上表达,但是使用太短而不允许相同链上的两个结构域之间配对的接头,从而迫使结构域与另一条链的互补结构域配对并产生两个抗原结合位点(参见,例如,Holliger等,Proc.Natl.Acad.Sci.,90:64446448,1993;Poljak等,Structure,2:1121 1123,1994)。

[0224] 抗体还包括经遗传改造形式,例如嵌合抗体(例如人源化鼠抗体)和异源缀合抗体(例如双特异性抗体)。还参见Pierce Catalog and Handbook,1994-1995(Pierce Chemical Co.,Rockford,IL);Kuby,J.,Immunology,第3版.,W.H.Freeman&Co.,New York,1997。

[0225] 非天然存在的抗体可使用固相肽合成来构建,可重组产生,或者可例如如Huse等,Science 246:1275-1281(1989)(其通过引入并入本文)所述通过筛选由可变重链和可变轻链组成的组合文库而获得。制备例如嵌合的、人源化的、CDR移植的、单链和双功能性抗体的这些和其他方法是本领域技术人员公知的(Winter和Harris,Immunol.Today 14:243-246(1993);Ward等,Nature 341:544-546(1989);Harlow和Lane,同上,1988;Hilyard等,Protein Engineering:A practical approach(IRL出版社1992);Borrabeck,Antibody Engineering,第2版.(Oxford University出版社1995);其各自通过引用并入本文)。

[0226] 作为参照抗体的"与相同表位结合的抗体"是指在竞争测定中阻断参照抗体与其抗原结合的50%或更多的抗体,并且反过来,参照抗体在竞争性测定中阻断该抗体与其抗原结合的50%或更多。抗体竞争测定是已知的,并且本文中提供了示例性的竞争测定。

[0227] "人源化"抗体或抗原结合片段包含人框架区和来自非人(例如小鼠、大鼠或合成)抗体或抗原结合片段的一个或更多个CDR。提供CDR的非人抗体或抗原结合片段被称为"供体(donor)",并且提供框架的人抗体或抗原结合片段被称为"接纳体(acceptor)"。在一个实施方案中,在人源化的免疫球蛋白中,所有CDR都来自供体免疫球蛋白。恒定区不需要存在,但是如果存在的话,其可与人免疫球蛋白恒定区基本上相同,例如具有至少约85%至90%,例如约95%或更高的同一性。因此,除了可能的CDR之外,人源化抗体或抗原结合片段的所有部分都与天然人抗体序列的相应部分基本上相同。

[0228] "嵌合抗体"是包含来源于两种不同抗体(其通常来自不同的物种)的序列的抗体。在一些实例中,嵌合抗体包含来自一种人抗体的一个或更多个CDR和/或框架区和来自其他人抗体的CDR和/或框架区。

[0229] "完全人抗体"或"人抗体"是包含来自(或来源于)人基因组的序列,但不包含来自其他物种的序列的抗体。在一些实施方案中,人抗体包含来自(或来源于)人基因组的CDR、框架区和Fc区(如果存在的话)。人抗体可使用用于基于来源于人基因组的序列产生抗体的技术来鉴定和分离,例如通过噬菌体展示或使用转基因动物(参见,例如Barbas等Phage display:A Laboratory Manuel.第1版.New York:Cold Spring Harbor Laboratory出版社,2004.Print.;Lonberg,Nat.Biotech.,23:1117-1125,2005;Lonenberg,Curr.Opin.Immunol.,20:450-459,2008)。

[0230] 抗体可具有一个或更多个结合位点。如果存在多于一个结合位点,则结合位点可彼此相同或者可以不同。例如,天然存在的免疫球蛋白具有两个相同的结合位点,单链抗体或Fab片段具有一个结合位点,而双特异性或双功能抗体具有两个不同的结合位点。

[0231] 测试抗体与CAR的任何功能性部分结合的能力的方法是本领域中已知的并且包括任何抗体-抗原结合测定,例如如放射免疫测定(radioimmunoassay,RIA)、ELISA、Western印迹、免疫沉淀和竞争性抑制测定法(参见,例如,Janeway等,见下文,美国专利申请公开No.2002/0197266A1和美国专利No.7,338,929)。

[0232] 此外,CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合部分可被修饰以包含可检测标记,

例如如放射性同位素、荧光团(例如,异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate,FITC)、藻红蛋白(phycoerythrin,PE))、酶(例如,碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶)和元素颗粒(例如,金颗粒)。

[0233] C.缀合物

[0234] 对本文中公开的一种或更多种抗原具有特异性的CAR、表达CAR的T细胞或单克隆抗体或其抗原结合片段可使用任意数目的本领域技术人员已知的方法与试剂例如效应分子或可检测标志物缀合。可使用共价和非共价连接方式二者。缀合物包括但不限于其中存在效应分子或可检测标志物与抗体或抗原结合片段的共价连接的分子,所述抗体或抗原结合片段特异性结合本文中公开的一种或更多种抗原。本领域技术人员将理解,可使用多种效应分子和可检测标志物,包括(但不限于)化学治疗剂、抗血管生成剂、毒素、放射性试剂(例如^{125}I、^{32}P、^{14}C、^{3}H和^{35}S)和其他标记、靶部分和配体等。

[0235] 特定效应分子或可检测标志物的选择取决于特定的靶分子或细胞以及期望的生物学效应。因此,例如,效应分子可以是用于导致特定靶细胞(例如肿瘤细胞)死亡的细胞毒素。

[0236] 用于将效应分子或可检测标志物附接至抗体或抗原结合片段的方法根据效应物的化学结构而变化。多肽通常包含多种官能团;例如羧酸(COOH)、游离胺(-NH_2)或巯基(-SH)基团,其可用于与抗体上的合适官能团反应以导致效应分子或可检测标志物的结合。或者,将抗体或抗原结合片段衍生化以暴露或附接另外的反应性官能团。衍生化可涉及附接许多已知接头分子(例如,可获自Pierce Chemical Company,Rockford,IL的那些)中的任一种。接头可以是用于将抗体或抗原结合片段连接至效应分子或可检测标志物的任何分子。接头能够与抗体或抗原结合片段和效应分子或可检测标志物二者形成共价键。合适的接头是本领域技术人员公知的,且包括但不限于直链或支链碳接头、杂环碳接头或肽接头。当抗体或抗原结合片段和效应分子或可检测标志物是多肽时,接头可通过其侧基连接至组成氨基酸(例如通过二硫键连接至半胱氨酸)或连接至末端氨基酸的α碳氨基和羧基。

[0237] 在数个实施方案中,接头可包含间隔区元件,其在存在时增大接头的大小,使得效应分子或可检测标志物与抗体或抗原结合片段之间的距离增大。示例性间隔区是本领域普通技术人员已知的,并且包括以下中列出的那些:美国专利No.7,964,5667、498,298、6,884,869、6,323,315、6,239,104、6,034,065、5,780,588、5,665,860、5,663,149、5,635,483、5,599,902、5,554,725、5,530,097、5,521,284、5,504,191、5,410,024、5,138,036、5,076,973、4,986,988、4,978,744、4,879,278、4,816,444和4,486,414,以及美国专利公开No.20110212088和20110070248,其各自通过引用整体并入本文。

[0238] 在一些实施方案中,接头在胞内条件下是可切割的,使得在胞内环境中接头的切割从抗体或抗原结合片段释放效应分子或可检测标志物。在另一些实施方案中,接头不可切割,并且效应分子或可检测标志物例如通过抗体降解而释放。在一些实施方案中,接头可被存在于胞内环境(例如,在溶酶体或内体或陷窝(caveolea)内)中的切割剂切割。接头可以是例如肽接头,其被胞内肽酶或蛋白酶(包括但不限于溶酶体蛋白酶或内体蛋白酶)切割。在一些实施方案中,肽接头为至少两个氨基酸长或至少三个氨基酸长。然而,接头可以是4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个氨基酸长,例如1至2、1至3、2至5、3至10、3至15、1至5、1至10、1至15个氨基酸长。蛋白酶可包括组织蛋白酶(cathepsin)B和D以及纤溶酶,已知

所有这些均水解二肽药物衍生物,导致靶细胞内活性药物的释放(参见,例如Dubowchik and Walker,1999,Pharm.Therapeutics 83:67-123)。例如,可使用可被巯基依赖性蛋白酶组织蛋白酶B切割的肽接头(例如,苯丙氨酸-亮氨酸或甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-甘氨酸接头)。这样的接头的另一些实例在例如美国专利No.6,214,345中描述,其通过引用并入本文。在一个具体的实施方案中,可被胞内蛋白酶切割的肽接头是缬氨酸-瓜氨酸接头或苯丙氨酸-赖氨酸接头(参见,例如美国专利No.6,214,345,其描述了具有缬氨酸-瓜氨酸接头的多柔比星的合成)。

[0239] 在另一些实施方案中,可切割接头是pH敏感的,即在某些pH值下对水解敏感。通常来说,pH敏感接头在酸性条件下可水解。例如,可使用在溶酶体中可水解的酸不稳定接头(例如,腙、缩氨基脲、缩氨基硫脲、顺乌头酰胺、原酸酯、缩醛、缩酮等)(参见,例如美国专利No.5,122,368、5,824,805、5,622,929;Dubowchik and Walker,1999,Pharm.Therapeutics 83:67-123;Neville等,1989,Biol.Chem.264:14653-14661)。这样的接头在中性pH条件(例如在血液中的条件)下相对稳定,但在低于pH 5.5或5.0(溶酶体的近似pH)下不稳定。在某些实施方案中,可水解接头是硫醚接头(例如,如通过酰腙键与治疗剂连接的硫醚(参见,例如美国专利No.5,622,929)。

[0240] 在另一些实施方案中,接头在还原条件下是可切割的(例如,二硫化物接头)。多种二硫化物接头是本领域中已知的,包括例如使用以下可形成的那些:SATA(N-琥珀酰亚胺基-S-乙酰基硫代乙酸酯)、SPDP(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯)、SPDB(N-琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯)和SMPT(N-琥珀酰亚胺基-氧基羰基-α-甲基-α-(2-吡啶基-二硫代)甲苯)-、SPDB和SMPT。(参见,例如Thorpe等,1987,Cancer Res.47:5924-5931;Wawrzynczak等,In Immunoconjugates:Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer(C.W.Vogel ed.,Oxford U.出版社,1987);Phillips等,Cancer Res.68:92809290,2008)。还参见美国专利No.4,880,935)。

[0241] 在另一些具体实施方案中,接头是丙二酸酯接头(Johnson等,1995,Anticancer Res.15:1387-93)、马来酰亚胺苯甲酰基接头(Lau等,1995,Bioorg-Med-Chem.3(10):1299-1304)或3'N-酰胺类似物(Lau等,1995,Bioorg-Med-Chem.3(10):1305-12)。

[0242] 在另一些实施方案中,接头不可切割,并且效应分子或可检测标志物通过抗体降解而释放(参见美国公开No.2005/0238649,其通过引用整体并入本文)。

[0243] 在数个实施方案中,接头对胞外环境中的切割具有抗性。例如,当缀合物存在于胞外环境中(例如血浆中)时,缀合物的样品中不多于约20%、不多于约15%、不多于约10%、不多于约5%、不多于约3%、或不多于约1%的接头被切割。可例如通过将包含目标接头的缀合物与血浆一起孵育预定的时间段(例如,2、4、8、16或24小时)并随后对血浆中存在的游离效应分子或可检测标志物的量进行定量来确定接头是否对胞外环境中的切割具有抗性。可用于缀合物中的多种示例性接头在WO 2004-010957、美国公开No.2006/0074008、美国公开No.20050238649和美国公开No.2006/0024317中描述,其各自通过引用整体并入本文。

[0244] 在数个实施方案中,提供了CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合部分与一种或更多种小分子毒素(例如加利车霉素(calicheamicin)、美登素类化合物(maytansinoid)、多拉司他汀(dolastatin)、奥瑞斯他汀(auristatin)、单端孢菌烯(trichothecene)和CC1065)以及这些毒素的具有毒素活性的衍生物的缀合物。

[0245] 适合用作美登素类化合物毒素部分的美登素化合物是本领域中公知的,并且可根据已知方法从天然来源分离,使用基因工程技术产生(参见Yu等(2002)PNAS 99:7968-7973),或根据已知方法合成地制备美登醇和美登醇类似物。美登素类化合物是通过抑制微管蛋白聚合而发挥作用的有丝分裂抑制剂。美登素首次从东非灌木齿叶美登木(Maytenus serrata)中分离(美国专利No.3,896,111)。随后,发现某些微生物也产生美登素类化合物,例如美登醇和C-3美登醇酯(美国专利No.4,151,042)。合成的美登醇及其衍生物和类似物例如在以下中公开:美国专利No.4,137,230、4,248,870、4,256,746、4,260,608、4,265,814、4,294,757、4,307,016、4,308,268、4,308,269、4,309,428、4,313,946、4,315,929、4,317,821、4,322,348、4,331,598、4,361,650、4,364,866、4,424,219、4,450,254、4,362,663和4,371,533,其各自通过引用并入本文。包含美登素类化合物的缀合物、其制备方法及其治疗用途在例如美国专利No.5,208,020、5,416,064、6,441,163以及欧洲专利EP 0 425 235 B1中公开,其公开内容通过引用明确地并入本文。

[0246] 另外的毒素可与CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合部分一起使用。示例性毒素包括假单胞菌外毒素(Pseudomonas exotoxin,PE)、蓖麻毒蛋白(ricin)、相思豆毒蛋白(abrin)、白喉毒素及其亚基、核毒素(ribotoxin)、核糖核酸酶、皂草毒蛋白(saporin)和加利车霉素以及肉毒杆菌毒素A至F。这些毒素是本领域中公知的,并且许多可从商业来源容易地获得(例如Sigma Chemical Company,St.Louis,MO)。所考虑的毒素还包括毒素的变体(参见,例如,参见美国专利No.5,079,163和4,689,401)。

[0247] 皂草毒蛋白是来自肥皂草(Saponaria officinalis)的毒素,其通过使核糖体复合体的60S部分失活来破坏蛋白质合成(Stirpe等,Bio/Technology,10:405-412,1992)。然而,该毒素不具有特异性进入细胞的机制,并因此需要与识别细胞表面蛋白质的抗体或抗原结合片段缀合,所述细胞表面蛋白质被内化以被细胞有效地摄取。

[0248] 白喉毒素分离自白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheriae)。通常来说,用于免疫毒素的白喉毒素被突变以降低或消除非特异性毒性。具有完全酶活性但显著降低的非特异性毒性的被称为CRM107的突变体自二十世纪七十年代就已知(Laird和Groman,J.Virol.19:220,1976),并且已被用于人临床试验。参见美国专利No.5,792,458和美国专利No.5,208,021。

[0249] 蓖麻毒素是来自蓖麻(Ricinus communis)(蓖麻籽)的凝集素RCA60。对于蓖麻毒素的实例,参见美国专利No.5,079,163和美国专利No.4,689,401。根据其分子量,蓖麻凝集素(Ricinus communis agglutinin,RCA)以分别为约65和120kD的被称为RCA_{60}和RCA_{120}的两种形式存在(Nicholson&Blaustein,J.Biochim.Biophys.Acta 266:543,1972)。A链负责使蛋白质合成失活和杀伤细胞。B链使蓖麻毒素与细胞表面半乳糖残基结合,并且有助于A链转运到胞质溶胶中(Olsnes等,Nature 249:627-631,1974和美国专利No.3,060,165)。

[0250] 核糖核酸酶也与靶向分子缀合以用作免疫毒素(参见Suzuki等,Nat.Biotech.17:265-70,1999)。一些示例性核毒素(ribotoxin)(例如α-帚曲毒蛋白(α-sarcin)和局限曲菌素(restrictocin))在例如Rathore等,Gene 190:31-5,1997;和Goyal和Batra,Biochem.345 Pt 2:247-54,2000中讨论。加利车霉素首次分离自棘孢小单孢(Micromonospora echinospora),并且是烯二炔类抗肿瘤抗生素家族的成员,其造成DNA中的双链断裂,导致凋亡(参见,例如Lee等,J.Antibiot.42:1070-87,1989)。该药物是临床试

验中免疫毒素的毒性部分(参见,例如Gillespie等,Ann.Oncol.11:735-41,2000)。

[0251] 相思豆毒蛋白包含来自相思子(Abrus precatorius)的毒性凝集素。毒素原理,相思豆毒蛋白a、b、c和d的分子量为约63至67kD,并且由两个二硫键连接的多肽链A和B构成。A链抑制蛋白质合成;B链(相思豆毒蛋白-b)与D-半乳糖残基结合(参见Funatsu等,Agr.Biol.Chem.52:1095,1988;以及Olsnes,Methods Enzymol.50:330-335,1978)。

[0252] CAR、表达CAR的T细胞、对本文中公开的一种或更多种抗原具有特异性的单克隆抗体、其抗原结合片段也可与可检测标志物缀合;例如能够通过以下检测的可检测标志物:ELISA、分光光度法、流式细胞术、显微术或诊断成像技术(例如计算机断层扫描(computed tomography,CT)、计算机轴向断层扫描(computed axial tomography,CAT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging,MRI)、核磁共振成像(nuclear magnetic resonance imaging,NMRI)、磁共振断层扫描(magnetic resonance tomography,MTR)、超声、纤维镜检查和腹腔镜检查)。可检测标志物的一些具体的非限制性实例包括荧光团、化学发光剂、酶连接、放射性同位素和重金属或化合物(例如用于通过MRI检测的超顺磁性铁氧化物纳米晶体)。例如,可用的可检测标志物包括荧光化合物,包括荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、5-二甲基胺-1-萘磺酰氯、藻红蛋白、镧系元素磷光体等。生物发光标志物也是有用的,例如萤光素酶、绿色荧光蛋白(Green fluorescent protein,GFP)、黄色荧光蛋白(Yellow fluorescent protein,YFP)。CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合部分也可与可用于检测的酶(例如辣根过氧化物酶、β-半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酶、葡萄糖氧化酶等)缀合。当CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合部分与可检测酶缀合时,其可通过添加另外的试剂来检测,酶使用该试剂产生可辨别的反应产物。例如,当存在试剂辣根过氧化物酶时,添加过氧化氢和二氨基联苯胺产生视觉上可检测的有色反应产物。CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合部分也可与生物素缀合,并且通过间接测量亲和素或链霉亲和素结合来检测。应指出,亲和素本身可与酶或荧光标记缀合。

[0253] CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合部分可与顺磁性试剂(例如钆)缀合。顺磁性试剂(例如超顺磁性铁氧化物)也可用作标记。抗体也可与镧系元素(例如铕和镝)和锰缀合。抗体或抗原结合片段还可用被第二报道物识别的预定多肽表位(例如亮氨酸拉链对序列、第二抗体的结合位点、金属结合结构域、表位标签)标记。

[0254] CAR、表达CAR的T细胞、抗体或其抗原结合部分也可与放射性标记的氨基酸缀合。放射性标记可用于诊断目的和治疗目的二者。例如,放射性标记可用于通过x射线、发射光谱或其他诊断技术来检测本文中公开的一种或更多种抗原和表达抗原的细胞。此外,放射性标记可治疗性地用作毒素以用于在对象中治疗肿瘤,例如用于治疗神经母细胞瘤。多肽标记的一些实例包括但不限于以下放射性同位素或放射性核苷酸:^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I。

[0255] 检测这样的可检测标志物的手段是本领域技术人员公知的。因此,例如,可使用照相胶片或闪烁计数器检测放射性标记,可使用光电检测器检测荧光标记以检测发射的照射。通常通过向酶提供底物并检测酶对底物之作用产生的反应产物来检测酶标记,并通过简单地使有色标记可视化来检测比色标记。

[0256] D.核苷酸、表达、载体和宿主细胞

[0257] 本发明的一个实施方案还提供了包含编码本文中所述的任何CAR、抗体或其抗原

结合部分(包括其功能性部分和功能性变体)的核苷酸序列的核酸。本发明的核酸可包含编码本文中所述的任何前导序列、抗原结合结构域、跨膜结构域和/或胞内T细胞信号传导结构域的核苷酸序列。

[0258] 在一些实施方案中,核苷酸序列可以是经密码子修饰的。不受特定理论的约束,认为核苷酸序列的密码子优化提高了mRNA转录物的翻译效率。核苷酸序列的密码子优化可涉及将天然密码子替换成编码相同氨基酸但可被细胞内更容易获得的tRNA翻译的另一密码子,从而提高翻译效率。核苷酸序列的优化还可降低干扰翻译的二级mRNA结构,从而提高翻译效率。

[0259] 在本发明的一个实施方案中,核酸可包含编码本发明CAR的抗原结合结构域的经密码子修饰的核苷酸序列。在本发明的另一个实施方案中,核酸可包含编码本文中所述的任何CAR(包括其功能性部分和功能性变体)的经密码子修饰的核苷酸序列。

[0260] 本文中使用的“核酸”包括“多核苷酸”、“寡核苷酸”和“核酸分子”,并且通常意指DNA或RNA的聚合物,其可以是单链或双链的,合成的或从天然来源获得(例如,分离和/或纯化)的,其可包含天然、非天然或改变的核苷酸,并且其可包含天然、非天然或改变的核苷酸间连接,例如氨基磷酸酯连接或硫代磷酸酯连接,而不是存在于未经修饰的寡核苷酸的核苷酸之间的磷酸二酯。在一些实施方案中,核酸不包含任何插入、缺失、倒位和/或替换。然而,如本文中所讨论的,在一些情况下,核酸包含一个或更多个插入、缺失、倒位和/或替换可以是合适的。

[0261] 重组核酸可以是具有非天然存在的序列或具有通过序列的两个在其他情况下分开的区段的人工组合制备的序列的核酸。这种人工组合通常通过化学合成,或者更常见地通过分离的核酸区段的人工操作,例如通过基因工程技术(例如Sambrook等(同上)中描述的那些)来完成。可使用本领域中已知的方法基于化学合成和/或酶促连接反应来构建核酸。参见,例如Sambrook等(同上)和Ausubel等(同上)。例如,可使用天然存在的核苷酸或多种经修饰核苷酸来化学合成核酸,所述经修饰核苷酸被设计成提高分子的生物学稳定性或提高杂交后形成的双链体的物理稳定性(例如硫代磷酸酯衍生物和吖啶取代的核苷酸)。可用于产生核酸的经修饰核苷酸的一些实例包括但不限于:5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、4-乙酰胞嘧啶、5-(羧基羟甲基)尿嘧啶、5-羧甲基氨基甲基-2-硫尿苷、5-羧甲基氨基甲基尿嘧啶、二氢尿嘧啶、β-D-半乳糖基辫苷、肌苷、N6-异戊烯基腺嘌呤、1-甲基鸟嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鸟嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鸟嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N6-取代腺嘌呤、7-甲基鸟嘌呤、5-甲基氨基甲基尿嘧啶、5-甲氧基氨基甲基-2-硫尿嘧啶、β-D-甘露糖基辫苷、5’-甲氧基羧甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲硫基-N6-异戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧基乙酸(v)、wybutoxosine、假尿嘧啶、辫苷、2-硫胞嘧啶、5-甲基-2-硫尿嘧啶、2-硫尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧基乙酸甲酯、3-(3-氨基-3-N-2-羧丙基)尿嘧啶和2,6-二氨基嘌呤。或者,本发明的一种或更多种核酸可从公司(例如Integrated DNA Technologies(Coralville,IA,USA))购买。

[0262] 核酸可包含编码任何CAR或其功能性部分或功能性变体的任何分离的或纯化的核苷酸序列。或者,核苷酸序列可包含简并至任何序列或简并序列之组合的核苷酸序列。

[0263] 一个实施方案还提供了分离的或纯化的核酸,所述核酸包含与本文中所述的任何核酸的核苷酸序列互补的核苷酸序列或在严格条件下与本文中所述的任何核酸的核苷酸

序列杂交的核苷酸序列。

[0264] 在严格条件下杂交的核苷酸序列可在高严格条件下杂交。“高严格条件”意指核苷酸序列以比非特异性杂交可检测地更强的量与靶序列(本文中所述的任何核酸的核苷酸序列)特异性杂交。高严格条件包括将具有精确互补序列的多核苷酸或仅包含少数分散的错配的多核苷酸与碰巧具有少数与核苷酸序列匹配的小区域(例如,3至10个碱基)的随机序列区分开的条件。这样的互补小区域比14至17个或更多个碱基的全长互补序列更容易解链,并且高度严格杂交使得它们可易于区分。相对高的严格条件包括例如低盐和/或高温条件,例如通过在约50℃至70℃的温度下由约0.02M至0.1M NaCl或等同物来提供。这样的高严格条件容许核苷酸序列与模板或靶链之间小的(如果有的话)错配,并且特别适合于检测任何本发明CAR的表达。通常认识到,通过添加提高量的甲酰胺可使条件变得更加严格。

[0265] 还提供了包含与本文中所述的任何核酸具有至少约70%或更多,例如约80%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同一性的核苷酸序列的核酸。

[0266] 在一个实施方案中,可将核酸并入到重组表达载体中。在这一点上,一个实施方案提供了包含任何核酸的重组表达载体。为了本文中的目的,术语“重组表达载体”意指经遗传性修饰的寡核苷酸或多核苷酸构建体,当构建体包含编码mRNA、蛋白质、多肽或肽的核苷酸序列并且在足以使mRNA、蛋白质、多肽或肽在细胞内表达的条件下使载体与细胞接触时,其允许宿主细胞表达mRNA、蛋白质、多肽或肽。载体作为整体不是天然存在的。

[0267] 但是,载体的部分可以是天然存在的。重组表达载体可包含任何类型的核苷酸,包括但不限于DNA和RNA,其可以是单链或双链的,合成的或部分地从天然来源获得的,并且其可包含天然、非天然或改变的核苷酸。重组表达载体可包含天然存在或非天然存在的核苷酸间连接或这两种类型的连接。优选地,非天然存在的或改变的核苷酸或核苷酸间连接不阻碍载体的转录或复制。

[0268] 在一个实施方案中,重组表达载体可以是任何合适的重组表达载体,并且可用于转化或转染任何合适的宿主细胞。合适的载体包括设计用于繁殖和扩增或者用于表达或用于这二者的载体,例如质粒和病毒。载体可选自pUC系列(Fermentas Life Sciences,Glen Burnie,MD)、pBluescript系列(Stratagene,LaJolla,CA)、pET系列(Novagen,Madison,WI)、pGEX系列(Pharmacia Biotech,Uppsala,Sweden)和pEX系列(Clontech,Palo Alto,CA)。

[0269] 也可使用噬菌体载体,例如λüTIO、λüTI1、λZapII(Stratagene)、EMBL4和λNMI149。植物表达载体的一些实例包括pBIO1、pBI101.2、pBHO1.3、pBI121和pBIN19(Clontech)。动物表达载体的一些实例包括pEUK-C1、pMAM和pMAMneo(Clontech)。重组表达载体可以是病毒载体,例如逆转录病毒载体或慢病毒载体。慢病毒载体是来源于慢病毒基因组的至少一部分的载体,尤其包括自我失活性慢病毒载体,如Milone等,Mol.Ther.17(8):1453-1464(2009)中提供的。可用于临床的慢病毒载体的另一些实例包括例如但不限于来自Oxford BioMedica plc的LENTIVECTOR.RTM.基因递送技术,来自Lentigen的LENTIMAX.TM.载体系统等。慢病毒载体的非临床类型也是可用的并且是本领域技术人员已知的。

[0270] 许多转染技术通常是本领域中已知的(参见,例如Graham等,Virology,52:456-

467(1973);Sambrook等,同上;Davis等,Basic Methods in Molecular Biology,Elsevier(1986);以及Chu等,Gene,13:97(1981)。

[0271] 转染方法包括磷酸钙共沉淀(参见,例如Graham等,同上)、直接微量注射到培养的细胞中(参见,例如Capecchi,Cell,22:479-488(1980))、电穿孔(参见,例如Shigekawa等,BioTechniques,6:742-751(1988))、脂质体介导的基因转移(参见,例如Mannino等,BioTechniques,6:682-690(1988))、脂质介导的转导(参见,例如Feigner等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,84:7413-7417(1987))和使用高速微弹(microprojectile)的核酸递送(参见,例如Klein等,Nature,327:70-73(1987))。

[0272] 在一个实施方案中,可使用以下中描述的标准重组DNA技术来制备重组表达载体:例如,Sambrook等,同上,以及Ausubel等,同上。可制备环状或线性的表达载体构建体,以包含在原核或真核宿主细胞中有功能的复制系统。复制系统可来自例如ColEl、2μ质粒、λ、SV40、牛乳头瘤病毒等。

[0273] 重组表达载体可包含调节序列,例如转录和翻译起始和终止密码子,其对于将酌情引入载体的宿主细胞(例如,细菌、真菌、植物或动物)的类型是特异性的,并考虑载体是基于DNA还是RNA。重组表达载体可包含限制性位点以促进克隆。

[0274] 重组表达载体可包括一个或更多个标记基因,其允许选择经转化或转染的宿主细胞。标记基因包含杀生物剂抗性,例如对抗生素、重金属等的抗性,在营养缺陷型宿主中互补以提供原养型等。用于本发明表达载体的合适标记基因包括例如新霉素/G418抗性基因、潮霉素抗性基因、组氨醇抗性基因、四环素抗性基因和氨苄青霉素抗性基因。

[0275] 重组表达载体可包含天然或非天然启动子,所述启动子与编码CAR(包括其功能性部分和功能性变体)的核苷酸序列或与和编码CAR的核苷酸序列互补或杂交的核苷酸序列可操作地连接。启动子(例如,强、弱、诱导型、组织特异性和发育特异性)的选择在技术人员的普通技术范围内。类似地,核苷酸序列与启动子的组合也在技术人员的技术范围内。启动子可以是非病毒启动子或病毒启动子,例如巨细胞病毒(CMV)启动子、SV40启动子、RSV启动子或在鼠干细胞病毒的长末端重复中发现的启动子。

[0276] 重组表达载体可设计成用于瞬时表达、用于稳定表达或用于这二者。此外,可使重组表达载体用于组成型表达或用于诱导型表达。

[0277] 此外,重组表达载体可被制备成包含自杀基因。本文中使用的术语“自杀基因”是指导致表达自杀基因的细胞死亡的基因。自杀基因可以是赋予表达基因的细胞对试剂(例如,药物)的敏感性,并且当细胞接触或暴露于试剂时造成细胞死亡的基因。自杀基因是本领域中已知的(参见,例如,Suicide Gene Therapy:Methods and Reviews,Springer,Caroline J.(Cancer Research UK Centre for Cancer Therapeutics,Institute of Cancer Research,Sutton,Surrey,UK),Humana出版社,2004),并且包括例如单纯疱疹病毒(HSV)胸苷激酶(TK)基因、胞嘧啶脱氨酶、嘌呤核苷磷酸化酶和硝基还原酶。

[0278] 一个实施方案还提供了包含本文中所述的任何重组表达载体的宿主细胞。本文中使用的术语“宿主细胞”是指可包含本发明重组表达载体的任何类型的细胞。宿主细胞可以是真核细胞,例如植物、动物、真菌或藻类,或者可以是原核细胞,例如细菌或原生动物。宿主细胞可以是培养的细胞或原代细胞(即从生物体(例如人)直接分离的)。宿主细胞可以是贴壁细胞或悬浮细胞(即悬浮生长的细胞)。合适的宿主细胞是本领域中已知的,并且包括

例如DH5a大肠杆菌(E.coli)细胞、中国仓鼠卵巢细胞、猴VERO细胞、COS细胞、HEK293细胞等。为了扩增或复制重组表达载体的目的,宿主细胞可以是原核细胞,例如DH5a细胞。为了产生重组CAR的目的,宿主细胞可以是哺乳动物细胞。宿主细胞可以是人细胞。尽管宿主细胞可以是任何细胞类型,可来源于任何类型的组织,并且可处于任何发育阶段,但宿主细胞可以是外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocyte,PBL)或外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell,PBMC)。宿主细胞可以是T细胞。

[0279] 为了本文中的目的,T细胞可以是任何T细胞,例如培养的T细胞,例如原代T细胞,或来自培养的T细胞系(例如Jurkat、SupT1等)的T细胞,或获自哺乳动物的T细胞。如果获自哺乳动物,则T细胞可获自多种来源,包括但不限于血液、骨髓、淋巴结、胸腺或其他组织或流体。T细胞也可以是富集或纯化的。T细胞可以是人T细胞。T细胞可以是从人分离的T细胞。T细胞可以是任何类型的T细胞,并且可处于任何发育阶段,包括但不限于$CD4^+/CD8^+$双阳性T细胞、$CD4^+$辅助T细胞(例如Th1和Th2细胞)、$CD8^+$T细胞(例如,细胞毒T细胞)、肿瘤浸润细胞、记忆T细胞、记忆干细胞(即Tscm)、幼稚T细胞等。T细胞可以是$CD8^+$T细胞或$CD4^+$T细胞。

[0280] 在一个实施方案中,本文中所述的CAR可用于合适的非T细胞。这样的细胞是具有免疫效应功能的那些,例如如NK细胞和由多能干细胞产生的T样细胞。

[0281] 一个实施方案还提供了包含本文中所述的至少一种宿主细胞的细胞群。细胞群可以是异质群,其包含含有所述的任何重组表达载体的宿主细胞,此外还包含至少一种不含任何重组表达载体的其他细胞(例如宿主细胞(例如T细胞)),或者T细胞以外的细胞,例如B细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、红细胞、肝细胞、内皮细胞、上皮细胞、肌细胞、脑细胞等。或者,细胞群可以是基本上同质群,其中群主要包含(例如,基本上由其组成)含有重组表达载体的宿主细胞。群也可以是细胞的克隆群,其中群的所有细胞都是包含重组表达载体的单宿主细胞的克隆,使得群的所有细胞都包含重组表达载体。在本发明的一个实施方案中,细胞群是包含含有本文中所述的重组表达载体的宿主细胞的克隆群。

[0282] 可分离和/或纯化CAR(包括其功能性部分和变体)、核酸、重组表达载体、宿主细胞(包括其群)和抗体(包括其抗原结合部分)。例如,纯化的(或分离的)宿主细胞制备物是其中宿主细胞比体内天然环境中细胞的纯度更高的制备物。这样的宿主细胞可例如通过标准纯化技术来生产。在一些实施方案中,纯化宿主细胞的制备物,使得宿主细胞占制备物的总细胞含量的至少约50%,例如至少约70%。例如,纯度可以是至少约50%,可以是大于约60%、约70%或约80%,或者可以是约100%。

[0283] E.治疗方法

[0284] 预期本文中公开的CAR可用于在哺乳动物中治疗或预防疾病的方法。在这点上,一个实施方案提供了在哺乳动物中治疗或预防癌症的方法,其包括向哺乳动物施用在哺乳动物中有效治疗或预防癌症之量的CAR、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群、抗体和/或其抗原结合部分和/或药物组合物。

[0285] 一个实施方案还包括在施用本文中公开的CAR之前对哺乳动物进行淋巴细胞清除(lymphodepleting)。淋巴细胞清除的一些实例包括但不限于非清髓性淋巴细胞清除化学治疗、清髓性淋巴细胞清除化学治疗、全身辐照等。

[0286] 对于其中施用宿主细胞或细胞群的方法,细胞可以是哺乳动物同种异体或自体的细胞。优选地,细胞是哺乳动物自体的。本文中使用的同种异体意指来源于与引入材料的个

体相同物种的不同动物的任何材料。当一个或更多个基因座的基因不同时,两个或更多个个体被认为彼此是同种异体的。在一些方面中,来自相同物种的个体的同种异体材料可以是基因上足够不同以抗原性地相互作用。本文中使用的“自体”意指来自随后重新引入材料的个体的同一个体的任何材料。

[0287] 本文中提及的哺乳动物可以是任何哺乳动物。本文中使用的术语“哺乳动物”是指任何哺乳动物,包括但不限于啮齿目的哺乳动物,例如小鼠和仓鼠,以及兔形目(Lagomorpha)的哺乳动物,例如兔。哺乳动物可来自食肉目(Carnivora),包括猫科动物(猫)和犬科动物(狗)。哺乳动物可来自偶蹄目(order Artiodactyla),包括牛科(牛)和猪科(猪),或者奇蹄目(order Perssodactyla),包括马科(马)。哺乳动物可以是灵长目、Ceboid或Simoid(猴),或者类人猿目(orderAnthropoids)(人和猿)。优选地,哺乳动物是人。

[0288] 对于所述方法,癌症可以是任何癌症,包括以下中的任一种:急性淋巴细胞癌、急性髓性白血病、肺泡状横纹肌肉瘤、膀胱癌症(例如膀胱癌)、骨癌、脑癌(例如髓母细胞瘤)、乳腺癌、肛门癌、肛管癌或肛门直肠癌、眼癌、肝内胆管癌、关节癌、颈癌、胆囊癌或胸膜癌、鼻癌、鼻腔癌或中耳癌、口腔癌、外阴癌、慢性淋巴细胞白血病、慢性髓性癌、结肠癌、食管癌、宫颈癌、纤维肉瘤、胃肠的类癌肿瘤、头颈癌(例如,头颈鳞状细胞癌)、霍奇金淋巴瘤、下咽癌、肾癌、喉癌、白血病、液体肿瘤、肝癌、肺癌(例如,非小细胞肺癌和肺腺癌)、淋巴瘤、间皮瘤、肥大细胞瘤、黑素瘤、多发性骨髓瘤、鼻咽癌、非霍奇金淋巴瘤、B慢性淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、急性淋巴细胞白血病(ALL)和伯基特淋巴瘤(Burkitt’s lymphoma)、卵巢癌、胰腺癌、腹膜癌、网膜癌和肠系膜癌、咽癌、前列腺癌、直肠癌、肾癌、皮肤癌、小肠癌、软组织癌、实体瘤、滑膜肉瘤、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌和输尿管癌。

[0289] 本文中使用的术语“治疗”和“预防”以及从其来源的词语不必需意味着100%或完全治疗或预防。相反,存在不同程度的治疗或预防,本领域普通技术人员认为其具有潜在的益处或治疗效果即可。在这一点上,该方法可提供对哺乳动物中癌症的任何量或任何水平的治疗或预防。

[0290] 此外,由该方法提供的治疗或预防可包括治疗或预防所治疗或预防的疾病(例如,癌症)的一种或更多种病症或症状。而且,为了本文中的目的,“预防”可涵盖延迟疾病或其症状或病症的发作。

[0291] 另一个实施方案提供了在哺乳动物中检测癌症之存在的方法,其包括:(a)使来自哺乳动物的包含一个或更多个细胞的样品与CAR、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群、抗体和/或其抗原结合部分或药物组合物接触,从而形成复合体,(b)以及检测该复合体,其中复合体的检出指示哺乳动物中癌症的存在。

[0292] 样品可通过任何合适的方法(例如活检或尸检)获得。活检是从个体中取出组织和/或细胞。这样的取出可以是从个体收集组织和/或细胞,以便在取出的组织和/或细胞上进行实验。该实验可包括确定个体是否具有和/或患有某病症或疾病状态的实验。病症或疾病可以是例如癌症。

[0293] 关于在哺乳动物中检测增殖性病症(例如癌症)之存在的方法的一个实施方案,包含哺乳动物细胞的样品可以是包含全细胞、其裂解物或全细胞裂解物级分(例如,核或胞质级分、全蛋白质级分或核酸级分)的样品。如果样品包含全细胞,则细胞可以是哺乳动物的

任何细胞,例如任何器官或组织的细胞,包括血细胞或内皮细胞。

[0294] 接触可相对于哺乳动物在体外或体内发生。优选地,接触是体外的。

[0295] 此外,复合体的检测可通过本领域中已知的任意数量的方式进行。例如,可用可检测标记(例如如上文公开的放射性同位素、荧光团(例如,异硫氰酸荧光素(FITC)、藻红蛋白(PE)))、酶(例如,碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶)和元素颗粒(例如,金颗粒))来标记本文中公开的CAR、本文中所述的多肽、蛋白质、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群或抗体或其抗原结合部分。

[0296] 测试CAR识别靶细胞的能力和抗原特异性的方法是本领域中已知的。例如,Clay等,J.Immunol,163:507-513(1999)教导了测量细胞因子(例如,干扰素-γ、粒细胞/单核细胞集落刺激因子(granulocyte/monocyte colony stimulating factor,GM-CSF)、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factorα,TNF-α)或白介素2(interleukin 2,IL-2))释放的方法。另外,可通过测量细胞的细胞毒性来评价CAR功能,如Zhao等,J.Immunol.174:4415-4423(2005)中所述。

[0297] 另一个实施方案提供了本发明的CAR、核酸、重组表达载体、宿主细胞、细胞群、抗体或其抗原结合部分和/或药物组合物用于在哺乳动物中治疗或预防增殖性病症(例如癌症)的用途。癌症可以是本文中所述的任何癌症。

[0298] 任何施用方法都可用于所公开的治疗剂,包括局部施用和全身施用。例如,可使用表面、经口、血管内(例如静脉内)、肌内、腹膜内、鼻内、皮内、鞘内和皮下施用。具体施用方式和剂量方案将由主治临床医生考虑病例的详情(例如,对象、疾病、涉及的疾病状态以及治疗是否是预防性的)来选择。在施用多于一种药剂或组合物的情况下,可使用一种或更多种施用途径;例如,化学治疗剂可经口施用,并且抗体或抗原结合片段或缀合物或组合物可静脉内施用。施用方法包括注射,其中CAR、CAR T细胞、缀合物、抗体、抗原结合片段或组合物提供在无毒可药用载体(例如水、盐水、林格液、葡萄糖溶液、5%人血清白蛋白、固定油、油酸乙酯或脂质体)中。在一些实施方案中,可使用所公开化合物的局部施用,例如通过将抗体或抗原结合片段施用于除去肿瘤的组织区域或怀疑易于发生肿瘤的区域。在一些实施方案中,包含治疗有效量的抗体或抗原结合片段的药物制剂的持续肿瘤内(或肿瘤旁)释放可以是有益的。在另一些实例中,将缀合物作为滴眼剂表面施用于角膜,或玻璃体内施用到眼中。

[0299] 所公开的治疗剂可配制成适合精确剂量的单独施用的单位剂型。另外,所公开的治疗剂可以以单剂量或多剂量方案施用。多剂量方案是其中主要治疗过程可具有多于一个分开的剂量(例如1至10个剂量),然后根据需要以随后的时间间隔给予其他剂量以维持或加强组合物的作用的方案。治疗可涉及在数天到数个月甚至数年的时期中化合物的每日剂量或多个每日剂量。因此,剂量方案还将至少部分地基于待治疗的对象的特定需求来确定,并将取决于施用操作者的判断。

[0300] 抗体或缀合物的典型剂量可以是约0.01至约30mg/kg,例如约0.1至约10mg/kg。

[0301] 在一些具体的实例中,以多个每日给药方案(例如至少两个连续日,10个连续日等,例如持续数周、数月或数年的时间),向对象施用包含缀合物、抗体、组合物、CAR、CAR T细胞或另外的药剂中的一种或更多种的治疗组合物。在一个实例中,向对象施用缀合物、抗体、组合物或另外的药剂至少30天,例如至少2个月、至少4个月、至少6个月、至少12个月、至

少24个月或至少36个月的时间。

[0302] 在一些实施方案中,所公开的方法包括与所公开的抗体、抗原结合片段、缀合物、CAR或表达CAR的T细胞组合,向对象提供手术、放射治疗和/或化学治疗剂(例如,先后地、基本上同时或同时)。这样的药剂和治疗的方法和治疗剂量是本领域技术人员已知的,并且可由熟练的临床医生确定。另外的药剂的制备和给药方案可根据制造商的说明书使用或由熟练的从业人员根据经验确定。这样的化学治疗的制备和给药方案也描述在Chemotherapy Service,(1992)编辑,M.C.Perry,Williams&Wilkins,Baltimore,MD中。

[0303] 在一些实施方案中,组合治疗可包括向对象施用治疗有效量的另外的癌症抑制剂。可与组合治疗一起使用的另一些治疗剂的一些非限制性实例包括微管结合剂、DNA嵌入剂或交联剂、DNA合成抑制剂、DNA和RNA转录抑制剂、抗体、酶、酶抑制剂、基因调节剂和血管生成抑制剂。这些药剂(以治疗有效量施用)和治疗可单独或组合使用。例如,可将任何合适的抗癌剂或抗血管生成剂与本文中公开的CAR、CAR-T细胞、抗体、抗原结合片段或缀合物组合施用。这样的药剂的方法和治疗剂量是本领域技术人员已知的,并且可由熟练的临床医生确定。

[0304] 另外的化学治疗剂包括但不限于烷化剂,例如氮芥类(例如,苯丁酸氮芥、二氯乙基甲胺(chlormethine)、环磷酰胺、异环磷酰胺和美法仑)、亚硝基脲类(例如,卡莫司汀、福莫司汀、洛莫司汀和链脲霉素)、铂化合物(例如,卡铂、顺铂、奥沙利铂和BBR3464)、白消安、达卡巴嗪、二氯甲基二乙胺(mechlorethamine)、丙卡巴肼、替莫唑胺、噻替派和乌拉莫司汀(uramustine);抗代谢物类,例如叶酸类(例如,甲氨喋呤、培美曲塞和雷替曲塞)、嘌呤类(例如,克拉屈滨、氯法拉滨、氟达拉滨、巯嘌呤和硫鸟嘌呤)、嘧啶类(例如,卡培他滨)、阿糖胞苷、氟尿嘧啶和吉西他滨;植物生物碱,例如鬼臼类(例如,依托泊苷和替尼泊苷)、紫杉烷类(例如,多西他赛和紫杉醇)、长春花类(例如,长春花碱、长春新碱、长春地辛和长春瑞滨);细胞毒性/抗肿瘤抗生素,例如蒽环类家族成员(例如,柔红霉素、多柔比星、表柔比星、伊达比星、米托蒽醌和戊柔比星)、博来霉素、利福平、羟基脲和丝裂霉素;拓扑异构酶抑制剂,例如拓扑替康和伊立替康;单克隆抗体,例如阿仑单抗、贝伐单抗、西妥昔单抗、吉妥珠单抗、利妥昔单抗、帕尼单抗、帕妥珠单抗和曲妥珠单抗;光敏剂,例如氨基乙酰丙酸、氨基乙酰丙酸甲酯、卟吩姆钠(porfimer sodium)和维替泊芬;以及另一些药剂,例如阿利维A酸、六甲蜜胺、安丫啶、阿那格雷、三氧化二砷、天冬酰胺酶、阿西替尼、贝沙罗汀、贝伐单抗、硼替佐米、塞来昔布、地尼白介素(denileukin diftitox)、厄罗替尼、雌莫司汀、吉非替尼、羟基脲、伊马替尼、拉帕替尼、帕唑帕尼、喷司他丁、马索罗酚(masoprocol)、米托坦、培门冬酶(pegaspargase)、他莫昔芬、索拉非尼、舒尼替尼、威罗菲尼(vemurafinib)、凡德他尼和维甲酸。这样的药剂的选择和治疗剂量是本领域技术人员已知的,并且可由熟练的临床医生确定。

[0305] 组合治疗可提供协同作用并证明是协同的,即当活性成分一起使用时实现的效果大于单独使用化合物所产生的效果的总和。当活性成分如下时可获得协同作用:(1)在组合的单位剂型中共配制并同时施用或递送;(2)作为独立制剂交替或平行递送;或(3)通过一些其他方案。当交替递送时,例如通过在分开的注射器中的不同注射先后施用或递送化合物时可获得协同作用。一般来说,在交替期间,先后(即,依次)施用每种活性成分的有效剂量,而在组合治疗中,两种或更多种活性成分的有效剂量一起施用。

[0306] 在一个实施方案中,在抗癌治疗之后将有效量的与本文中公开的一种或更多种抗原特异性结合的抗体或抗原结合片段或其缀合物施用于患有肿瘤的对象。在已经流逝了足够量的时间以允许所施用的抗体或抗原结合片段或缀合物与各癌细胞上表达的抗原形成免疫复合体之后,检测免疫复合体。免疫复合体的存在(或不存在)指示治疗的有效性。例如,与在治疗之前取得的对照相比免疫复合体的提高指示治疗是无效的,而与在治疗之前取得的对照相比免疫复合体的降低指示治疗是有效的。

[0307] F.生物药物组合物

[0308] 本文中提供了用于基因治疗、免疫治疗和/或细胞治疗的生物药物或生物制品组合物(以下称为"组合物"),所述组合物包含在载体(例如可药用载体)中的所公开的CAR、或表达CAR的T细胞、抗体、抗原结合片段、缀合物、CAR或表达与本文中公开的一种或更多种抗原特异性结合的CAR的T细胞中的一种或更多种。该组合物可制备成单位剂型用于向对象施用。施用的量和时间由治疗临床医生决定,以达到期望的结局。组合物可配制用于全身(例如静脉内)或局部(例如肿瘤内)施用。在一个实例中,公开的CAR、或表达CAR的T细胞、抗体、抗原结合片段、缀合物配制成用于肠胃外施用,例如静脉内施用。包含如本文中公开的CAR、或表达CAR的T细胞、缀合物、抗体或抗原结合片段的组合物用于例如治疗和检测肿瘤,例如但不限于神经母细胞瘤。在一些实例中,组合物可用于治疗或检测癌。包含如本文中公开的CAR、或表达CAR的T细胞、缀合物、抗体或抗原结合片段的组合物还用于例如检测病理性血管生成。

[0309] 用于施用的组合物可包含溶解在可药用载体(例如水性载体)中的CAR、或表达CAR的T细胞、缀合物、抗体或抗原结合片段的溶液。可使用多种水性载体,例如缓冲盐水等。这些溶液是无菌的,并且通常不含不期望的物质。这些组合物可通过常规、公知的灭菌技术灭菌。所述组合物可根据需要包含可药用辅助物质以接近生理条件,例如pH调节剂和缓冲剂、毒性调节剂、辅助剂等,例如乙酸钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、乳酸钠等。在这些制剂中,CAR、或表达CAR的T细胞、抗体或抗原结合片段或缀合物的浓度可广泛地变化,并将主要根据所选择的具体施用方式和对象的需要基于流体体积、黏度、体重等来进行选择。制备用于基因治疗、免疫治疗和/或细胞治疗的这样的剂型的实际方法对于本领域技术人员来说是已知的或将是明显的。

[0310] 用于静脉内施用的典型组合物包含每个对象每天约0.01至约30mg/kg抗体或抗原结合片段或缀合物(或相应剂量的CAR、或表达CAR的T细胞、包含抗体或抗原结合片段的缀合物)。制备可施用的组合物的实际方法对于本领域技术人员来说将是已知的或明显的,并且在出版物如Remington's Pharmaceutical Science,第19版,Mack Publishing Company,Easton,PA(1995)中更详细地描述。

[0311] CAR、或表达CAR的T细胞、抗体、抗原结合片段或缀合物可以以经冻干的形式提供,并且在施用之前用无菌水再水化,但是其也可以以已知浓度的无菌溶液提供。然后将CAR、或表达CAR的T细胞、抗体或抗原结合片段或缀合物的溶液添加至输注袋,所述输注袋包含0.9%氯化钠(USP),并且在一些情况下以0.5至15mg/kg体重的剂量施用。本领域中在施用抗体或抗原结合片段和缀合物药物中有相当多的经验可获得;例如,自1997年批准Rituxan®以来,抗体药物已在美国上市。CAR、或表达CAR的T细胞、抗体、其抗原结合片段和缀合物可通过缓慢输注而不是通过静脉内推注或快速浓注(bolus)施用。在一个实例中,施

用较高负荷剂量,随后将施用剂量维持在较低水平。例如,4mg/kg抗体或抗原结合片段(或相应剂量的包含抗体或抗原结合片段的缀合物)的初始负载剂量可在约90分钟的时间内输注,然后如果先前的剂量良好耐受,则每周2mg/kg的维持剂量在约30分钟的时间内输注,持续4至8周。

[0312] 控释胃肠外制剂可制备为植入物、油性注射剂或制备为颗粒体系。对于蛋白质递送系统的广泛概述,参见,Banga,A.J.,Therapeutic Peptides and Proteins:Formulation,Processing,and Delivery Systems,Technomic Publishing Company,Inc.,Lancaster,PA,(1995)。颗粒体系包括微球、微粒、微囊、纳米囊、纳米球和纳米粒。微囊包含治疗性蛋白质(例如细胞毒素或药物)作为核心。在微球中,治疗剂分散在整个颗粒中。小于约1μm的颗粒、微球和微囊通常分别被称为纳米粒、纳米球和纳米囊。毛细血管具有约5μm的直径,所以仅纳米粒是静脉内施用的。微粒的直径通常为约100μm,并且皮下或肌内施用。参见例如Kreuter,J.,Colloidal Drug Delivery Systems,J.Kreuter,编辑,Marcel Dekker,Inc.,New York,NY,第219至342页(1994);和Tice&Tabibi,Treatise on Controlled Drug Delivery,A.Kydonieus,编辑,Marcel Dekker,Inc.New York,NY,第315至339页,(1992)。

[0313] 聚合物可用于本文中公开的CAR、或表达CAR的T细胞、抗体或抗原结合片段或缀合物组合物的离子受控的释放。用于受控的药物递送的多种可降解和不可降解的聚合物基质是本领域中已知的(Langer,Accounts Chem.Res.26:537-542,1993)。例如,嵌段共聚物泊洛沙姆407在低温下作为黏性流动液体存在,但在体温下形成半固体凝胶。已显示其是配制和持续递送重组白介素-2和脲酶的有效载剂(Johnston等,Pharm.Res.9:425-434,1992;和Pec等,J.Parent.Sci.Tech.44(2):58-65,1990)。或者,羟基磷灰石已被用作蛋白质受控释放的微载体(Ijntema等,Int.J.Pharm.112:215-224,1994)。在另一个方面中,脂质体用于脂质封装之药物的受控释放以及药物靶向(Betageri等,Liposome Drug Delivery Systems,Technomic Publishing Co.,Inc.,Lancaster,PA(1993))。用于治疗性蛋白质的受控递送的许多另外的系统是已知的(参见美国专利No.5,055,303、美国专利No.5,188,837、美国专利No.4,235,871、美国专利No.4,501,728、美国专利No.4,837,028、美国专利No.4,957,735、美国专利No.5,019,369、美国专利No.5,055,303、美国专利No.5,514,670、美国专利No.5,413,797、美国专利No.5,268,164、美国专利No.5,004,697、美国专利No.4,902,505、美国专利No.5,506,206、美国专利No.5,271,961、美国专利No.5,254,342和美国专利No.5,534,496)。

[0314] G.药盒

[0315] 在一个方面中,还提供了使用本文中公开的CAR的药盒。例如,用于在对象中治疗肿瘤或制备表达本文中公开的一种或更多种CAR的CAR T细胞的药盒。药盒通常将包含如本文中公开的公开的抗体、抗原结合片段、缀合物、核酸分子、CAR或表达CAR的T细胞。可在药盒中包含多于一种所公开的抗体、抗原结合片段、缀合物、核酸分子、CAR或表达CAR的T细胞。

[0316] 药盒可包含容器和在容器上或与容器缔合的标签或包装插页。合适的容器包括例如瓶、小瓶、注射器等。容器可由多种材料(例如玻璃或塑料)形成。容器通常容纳包含所公开的抗体、抗原结合片段、缀合物、核酸分子、CAR或表达CAR的T细胞中的一种或更多种的组

合物。在数个实施方案中,容器可具有无菌入口(例如,容器可以是静脉内溶液袋或小瓶,其具有可被皮下注射针头刺穿的塞)。标签或包装插页指示组合物用于治疗特定病症。

[0317] 标签或包装插页通常将还包含例如在治疗或预防肿瘤或制备CAR T细胞的方法中使用所公开的抗体、抗原结合片段、缀合物、核酸分子、CAR或表达CAR的T细胞的说明书。包装插页通常包含习惯上包含在治疗产品的商业包装中的说明书,其包含关于使用这样的治疗产品的适应证、用法、剂量、施用、禁忌症和/或警告的信息。指导材料可以是以电子形式(例如计算机软盘或光盘)书写的,或者可以是可视的(例如视频文件)。药盒还可包含另外的组分以有利于为其设计药盒的特定应用。因此,例如,药盒可另外地包含检测标记的手段(例如酶标记的酶底物、检测荧光标记的滤波装置、合适的次级标记(例如二抗)等)。药盒可另外包含常规用于实践特定方法的缓冲剂和其他试剂。这样的药盒和合适的内容物是本领域技术人员公知的。

实施例

[0318] 通过以下实施例进一步举例说明了本发明,这些实施例不应以任何方式被解释为对本发明范围加以限制。相反,应清楚地理解,在不脱离本发明的精神和/或所附权利要求书的范围的情况下,可采取多种其他实施方案、修改及其等同方案,在阅读了本文中的描述之后,所述其他实施方案、修改及其等同方案本身已向本领域技术人员提示。

[0319] 实施例1

[0320] 从完全人酵母展示文库中获得人BCMA特异性结合物

[0321] 材料和方法:

[0322] 使用大的酵母展示人初始单链可变片段(ScFv)抗体文库来分离本文中所述的抗人BCMA抗体。该文库是使用来自多于60名个体的人抗体基因储库的集合构建的。进行三轮磁活化细胞分选(magnetic-activated cell sorting,MACS)以将人ScFv结合物富集至重组人BCMA(胞外域)-Fc。对于第一轮酵母文库淘选,将酵母展示ScFv文库(5×10^{10}个细胞)与15ml PBSA(由杜氏(Dulbecco's)磷酸盐缓冲盐水(PBS)缓冲液中的0.1%牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin,BSA)组成)中的5μg/mL BCMA-Fc在室温下在旋转器上孵育1.5小时。在用25ml PBSA洗涤两次之后,将酵母文库混合物与100μL蛋白G微珠(Miltenyi Biotec)在室温下在旋转器上孵育30分钟。在洗涤一次之后,将文库混合物重悬于50ml PBSA中,并加载到MACS细胞分离柱(LS柱)上。在用10ml PBSA洗涤3次之后,然后将柱的酵母展示的ScFv结合物用2ml PBSA洗脱两次。将这些洗脱的酵母细胞合并,并随后重悬于50ml SDCAA培养基(在1L水中的20g D-葡萄糖、6.7g无氨基酸BD Difco™酵母氮源基础、5g Bacto™酪蛋白氨基酸、5.4g $Na_2.HPO_4$和8.56g $NaH_2PO_4.H_20$)中,并在30℃下在以225rpm的振荡下扩增20小时。然后在SGCAA培养基(由SDCAA培养基的相同组分组成,但包含半乳糖而不是葡萄糖)中在30℃下在以225rpm的振荡下诱导扩增的库,持续另外的16小时,并用于下一轮淘选。相同的过程再重复两次以富集BCMA-Fc特异性结合物。

[0323] 为了进一步富集具有更高亲和力和更好特异性的结合物,使用基于FACS的分选以从库中分离最强的结合物。将诱导的库与0.1μg/ml生物素化的BCMA-Fc在室温下孵育1小时,并随后用抗c-Myc-Alexa 488和链霉亲和素-PE缀合物染色,对相对于FITC信号具有最高PE的库的前1%进行设门和分选。将分选的库在SDCAA培养基中扩增,并提取酵母质粒DNA

并将其转化到细菌中用于单克隆DNA测序。对50个随机克隆进行测序,并鉴定了48个独特的序列。将17个分别命名为MTB-1、MTB-2、MTB-3、MTB-4、MTB-5、MTB-14、MTB-15、MTB-16、MTB-25、MTB-28、MTB-37、MTB-39、MTB-40、MTB-49、MTB-50、MTB-4-12和MTB-4-45的克隆克隆到CAR构建体中用于CAR-T功能筛选。

[0324] 实施例2

[0325] 并入了完全人结合物ScFv序列的靶向BCMA的CAR T构建体的产生和测试

[0326] 该实施例2描述了用于治疗MM(如果的话)和其他BCMA阳性恶性肿瘤的靶向肿瘤抗原BCMA的CAR T细胞的产生。

[0327] BCMA CAR设计图解在图1中示出。将靶向BCMA的完全人ScFv结合物与CD8铰链和跨膜结构域、4-1BB共刺激结构域和CD3ζ活化结构域框内连接。将CAR序列并入到第三代慢病毒载体中,并将其用于转导人原代T细胞以产生BCMA CAR T细胞。

[0328] 下表1列出了构建的BCMA CAR构建体,其通过在左栏中CAR设计中使用的ScFv序列,以及在右栏中每个构建体中的ScFv克隆命名的相应名称来命名。

[0329] 表1-CAR设计中使用的ScFv克隆的列表

[0330]

ScFv 序列名称	ScFv 克隆命名
序列 1	MTB-1
序列 2	MTB-2
序列 3	MTB-3
序列 4	MTB-4
序列 5	MTB-5
序列 14	MTB-14
序列 15	MTB-15
序列 16	MTB-16

序列 25	MTB-25
序列 28	MTB-28
序列 37	MTB-37
序列 39	MTB-39
序列 40	MTB-40
序列 49	MTB-49
序列 50	MTB-50
序列 4-12	MTB-4-12
序列 4-45	MTB-4-45

[0331]

[0332] 并入了单链可变片段(ScFv)序列的抗BCMA CAR的表面表达在图2中示出。每个含有ScFv的CAR的表达水平通过使用蛋白质L检测方法或BCMA-Fc方法对来自健康供体的经LV转导的T细胞进行流式细胞术分析来确定。在蛋白质L检测方法中,CAR T细胞和对照在用以下物质进行的两步程序中进行染色:步骤1)蛋白质L-生物素缀合物,接着是步骤2)链霉亲和素-PE试剂。在BCMA-Fc方法中,细胞用以下物质进行染色:步骤1:BCMA-Fc肽;接着是步骤2:抗Fc APC试剂。在分析CAR表达时,将两种方法的结果都考虑在内。所有CAR构建体均在人原代T细胞中成功表达,但具有ScFv序列15的CAR构建体(这两种染色方法均无法检测到)除外(图2)。未经转导的细胞(UTD)用作阴性染色对照,表明了CAR T染色的特异性。接下来,在基于萤光素酶的杀伤测定中评价了抗BCMA CAR的细胞裂解功能(图3)。

[0333] 将CAR T细胞与多发性骨髓瘤BCMA阳性肿瘤系RPMI-8226-luc或MM1.S-luc或者与BCMA阴性系293T-luc孵育,以控制非特异性CAR活化。

[0334] 效应物CAR T细胞和肿瘤细胞以5:1或10:1的效应物与靶标(E:T)的比组合,以比较和对比不同CAR构建体的效力(图3)。RPMI-8226细胞是对BCMA CAR介导的肿瘤杀伤最易感的细胞系,其中大多数CAR构建体在最低的为5的E:T比下实现了超过40%的肿瘤裂解(图3A),除含有ScFv序列1、序列2、序列15或序列25的CAR之外,而阴性对照未经转导的T细胞,UTD组,没有引起明显的肿瘤裂解(图3A)。在对细胞裂解较不易感的多发性骨髓瘤MM1.S细胞中,观察到具有ScFv序列5、序列16、序列37和序列40的CAR的强杀伤功能,但对于其他构建体则未观察到。UTD组没有引起明显的肿瘤杀伤,表明了杀伤是CAR特异性的(图3B)。没有观察到对缺乏BCMA靶抗原的293T细胞的杀伤,表明了杀伤应答的特异性(图3C)。

[0335] 基于这些结果,将分别并入了ScFv结合物序列5、16、37、40、4-12和4-45的CAR T构建体D0084、D0085、D0087、D0099、D0100用于进一步测试(表2)。

[0336] 表2.CAR构建体编号和相应的ScFv序列

[0337]

CAR构建体编号	LTG编号	ScFv序列名称
D0084	LTG2860	序列5
D0085	LTG2861	序列16

D0086	LTG2862	序列37
D0087	LTG2863	序列40
D0099	LTG2944	序列4-12
D0100	LTG2945	序列4-45

[0338] 接下来,通过在40的固定感染复数下转导人CD4+CD8+T细胞来评价BCMA CAR构建体的表达(图4)。如材料和方法中所述的,T细胞从人血沉棕黄层产物中分离,并用编码CAR的慢病毒载体进行转导。使用BCMA-Fc肽随后是抗Fc APC检测CAR+T细胞。用CD8抗体-FL对细胞进行复染,以确定CD8+和CD8-(CD4+)T细胞中的CAR表达。所有构建体均在CD4+以及CD8+T细胞中稳健表达。总CAR表达频率范围为19.5%至49.3%(图4)。示出了三个转导实验中的一个代表性供体的数据。

[0339] 然后,在基于萤光素酶的杀伤测定中,就肿瘤细胞裂解能力对CAR构建体D0084、D0085、D0087、D0099、D0100进行了比较。如上所述,使用稳定表达萤火虫萤光素酶的靶系。示出了来自两个独立供体的CAR T细胞,以表明结果的稳健性和可重复性(图5)。

[0340] CAR D0084、D0085、D0087、D0099、D0100的稳健杀伤能力在BCMA阳性多发性骨髓瘤细胞系MM1.S和RPMI-8226中得到证实。在UTD阴性对照组中没有观察到明显的杀伤,表明了杀伤对CAR表达的依赖性。此外,没有观察到针对BCMA阴性293T细胞的杀伤,表明了杀伤是BCMA依赖性的(图5)。

[0341] 实施例3

[0342] 并入了完全人结合物ScFv序列的靶向BCMA的CAR T构建体的体内测试

[0343] 实施例3描述了靶向肿瘤抗原BCMA的CAR T细胞用于治疗多发性骨髓瘤和其他BCMA阳性恶性肿瘤的长期体外评价和异种移植模型体内评价。这些测试方式为CAR T评价提供了更严格的环境,并更好地模拟了CAR T细胞在人患者中可遇到的条件。

[0344] 注:为清楚和简洁起见,在本实施例和以下实施例中,表2所示出的CAR构建体名称省略了一个零。因此,CAR构建体D0100变为D100,CAR构建体D0085变为D085,等等。

[0345] 材料和方法

[0346] T细胞转导和培养

[0347] 用TransAct(Miltenyi Biotec,Auburn CA)根据制造商的方案活化原代CD4和CD8 T细胞。将细胞在补充有30U/ml的重组人IL-2(Miltenyi Biotec)的TexMACS培养基(Miltenyi Biotec)中以1e6个细胞/ml的密度培养过夜。18至24小时之后,用含有CAR构建体的慢病毒载体转导T细胞。将T细胞与慢病毒载体一起孵育2天,并随后将培养物洗涤并重悬在含有IL-2的新鲜TexMACS培养基中,并维持在0.5e6个细胞/ml的密度。在T细胞培养开始之后的第6天或第7天,通过流式细胞术评估CAR的细胞表面表达。

[0348] 流式细胞术染色

[0349] 为了评估BCMA CAR的细胞表面表达,将0.5至1e6个CAR T细胞重悬在FACs缓冲液(Miltenyi Biotec的autoMACS冲洗液+MACS BSA储备液)中,并在4℃下与0.5ug的重组人BCMA Fc嵌合蛋白(RNDsystems)孵育20分钟。将细胞洗涤两次并重悬在FACs缓冲液中,并在4℃下与1:200稀释的抗Fc-Alexa Fluor 647孵育20分钟。将细胞再次洗涤两次并重悬在FACs缓冲液中,并在4℃下与1:50稀释的抗CD4-Vioblue或抗CD8-Viogreen(Miltenyi Biotec)和1:20稀释的7AAD孵育20分钟。随后洗涤细胞并使用MACSQuant®Analyzer 10

流式细胞仪(Miltenyi Biotec)分析细胞。

[0350] 对于耗竭标志物染色,将CAR T细胞重悬在FACs缓冲液中,并与1:30稀释的抗PD-1-Pevio770(Miltenyi Biotec)和抗LAG-3-APC(Biolegend)孵育。通过将CAR T细胞与1:30稀释的抗CD45RO-Pevio770、抗CD45RA-APC和CD62L-PE(Miltenyi Biotec)孵育,对记忆标志物进行染色。对于耗竭和记忆染色组二者,将细胞另外用CD8-Viogreen、CD3-Vioblue和7AAD染色。将细胞与抗体在4℃下孵育20分钟,并随后洗涤,然后使用MACSQuant Analyzer 10流式细胞仪进行捕获。

[0351] 对于胞内细胞因子染色,在BrefeldinA(BD Biosciences,CA)存在的情况下,将T细胞与靶细胞在37℃下孵育5至6小时。随后如前所述用细胞表面标志物CD8-Viogreen和CD3-Vioblue对细胞进行染色。在细胞表面染色之后,用固定/透化溶液试剂盒(BD Biosciences)根据制造商的方案,固定和透化细胞。然后按制造商建议的稀释用抗IFN-γ-APC、抗TNF-APCvio770和IL-2-PE(Miltenyi Biotec)对细胞进行染色。染色之后,使用MACSQuant Analyzer 10流式细胞仪分析细胞。

[0352] 长期共培养

[0353] 对于长期共培养实验,将CAR T细胞与表达GFP的靶细胞MM1.S或RPMI-8226以0.1至0.3的ETT比进行共培养。将细胞在含有用10ng/ml人重组TGF-β(Milteny iBiotec)处理或保持未经处理的TexMACS培养基的6孔板中培养。通过每2至3天添加经TGF-β处理的培养基或未经处理的培养基来喂养(feed)共培养物。通过使用流式细胞术量化CD3+细胞和GFP+细胞的数目来评估长期共培养期间不同时间点下的T细胞和靶细胞的绝对计数。通过使用CountBright绝对计数珠(Molecular Probes)对获得的细胞的数目进行归一化来确定绝对计数。当剩余的靶细胞少于15%时,将来自共培养的T细胞以0.1至0.3的ETT比添加至新鲜靶细胞,以启动随后轮次的共培养。进行另外轮次的共培养,直至T细胞不再增殖。

[0354] 体内肿瘤模型

[0355] 将来自Jackson Laboratory(Bar Harbor,ME)的7至8周龄的雌性NSG小鼠(NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ)用8e6个RPMI-8226细胞皮内注射至腹部。在允许肿瘤移植18至20天并达到如通过卡尺所测量的>60mm^{3}的体积大小之后,静脉内注射T细胞。对于接受CAR T细胞的组,输注5e6个CAR T细胞,并通过调整所注射的总T细胞数对组间CAR表达水平的差异进行归一化。在UTD组中输注的T细胞数目是在CAR T细胞组中注射的总T细胞的平均值。在T细胞输注之后第6至7天,将来自每组(未经处理组除外)的3至5只小鼠处死以收获肿瘤,而监测剩余小鼠的肿瘤进展和存活。每2至3天测量肿瘤大小和体重。处死肿瘤大小达到>1200mm的小鼠。

[0356] 将CAR构建体D100和D085在体外与靶标的长期共孵育中并排比较。该测定有助于CAR-T细胞长期暴露于靶抗原,例如体内和临床中可能出现的靶抗原,并可帮助识别CAR-T细胞长期功能的关键差异。D100和D085 CAR包含CD8胞外结构域和跨膜结构域、4-1BB/CD137共刺激结构域和CD3ζ活化结构域,并且仅在scFv序列中存在差异(图6A)。两种CAR构建体均在MOI(感染复数)10、20或40下实现稳健表达。选择具有相似CAR表面表达的CAR T系进行长期测定:对于D100为84.6%,对于D085为81.5%(图6B)。

[0357] 在第一轮共培养开始时将CAR T和靶细胞以0.1:1的E:T比组合,然后在每个连续轮次开始时将新鲜的靶RPMI-8226细胞掺入到培养物中,以替代已被CAR T细胞杀伤的靶细

胞,并维持期望的E:T比(图6C)。与CAR D085相比,BCMA CAR D100在第1、第3和第4轮长期共培养中表现出更大的T细胞扩增(图6D)。另外,CAR D 100长期介导优异的靶细胞杀伤,如在第4轮共培养中所见(图6E)。值得注意的是,在20天的共培养时间的进程中,CAR D085和D100二者的CD8+T细胞亚群的百分比继续提高,而CAR D085和D100中CD4+T群的百分比降低,尤其是在共孵育的更后期阶段时(图6F)。这是意料之中的,因为已知CD8+T细胞主导抗肿瘤应答的更后期阶段。然而,CAR100与靶细胞共培养中CD4+T和CD8+T亚群二者的百分比仍然高于CAR085中相应的T细胞亚群(图6F)。最后,与CAR085相比,CAR100 T细胞中炎性细胞因子IL-2和对CAR T功能至关重要的TNFα的产生更多,而IFNγ的水平相似(图6G)。总体而言,与BCMA CAR D085相比,BCMA CAR D100表现出优异的靶细胞杀伤、CD4+T和CD8+T亚群的扩增以及细胞因子的精细化(elaboration)。

[0358] 然后在RPMI-8226皮内异种移植小鼠模型中评价BCMA CAR D085和D100的体内抗肿瘤功能。在CAR T施用之前17天,向小鼠植入RPMI-8226细胞。具有已建立的RPMI-8226的小鼠用CAR T细胞或未经转导细胞(UTD)静脉内处理,并维持以用于肿瘤进展分析。在CAR施用之后6天,从每组的小鼠亚组中收获肿瘤,用于CAR T功能分析(图7A)。在肿瘤植入之后记录肿瘤进展,持续50天的时间(图7B)。虽然CAR D085和CAR 100在此异种移植模型中均介导肿瘤排斥,但BCMA CAR D100更有效且使肿瘤大小到研究第35天降低至低于检测限,而在用CAR D085处理的小鼠中,肿瘤缩小,但在观察期结束时仍可检测到(图7B)。CAR D100和CAR D085在该模型中均介导了100%的存活,与已满足处死标准的未经处理的小鼠和阴性UTD对照小鼠形成对比(图7C)。因此,CAR 100在体内的抗肿瘤功能方面优于CAR D085,且未显示出不良毒性。

[0359] 使用scFv序列4-1c开发了另外的CAR候选物CAR D153。如实施例1中所述获得4-1c scFv序列。将4-1c scFv序列并入到如图6A所示在CAR D100和D085中所使用的相同的CAR结构中。将CAR D153慢病毒载体转导到原代人T细胞中,实现了与CAR D085和CAR D100相当的CAR表达水平(图8A)。此外,CAR D153介导BCMA阳性多发性骨髓瘤靶细胞系RPMI-8226和MM1.S的强效裂解,类似于CAR D100和CAR D085(图8B)。在皮内异种移植RPMI-8226体内模型(图7A)中,CAR D153表现出与BCMA CAR D100的效力同等或更高的效力(图8C)。因此,CAR D153代表了另一种用于治疗BCMA阳性恶性肿瘤的高效候选物。

[0360] 实施例4

[0361] 并入了TGFβ诱饵受体以提高CAR在抑制性肿瘤微环境中的效力的经武装BCMA CAR的产生和测试。

[0362] 实施例4描述了并入了TGFBRII DN(TGFβ受体的显性阴性形式)以具有优异抗肿瘤性能的经武装BCMA CAR的开发和表征。

[0363] 材料和方法

[0364] TGFβRII显性阴性BCMA CAR的产生

[0365] 将人TGFβRII的胞外结构域和跨膜结构域的序列(GenBank ID:AHI94914.1,第1至191位氨基酸残基)克隆至BCMA D100 CAR的下游。CAR和TGFβRII序列由来源于猪捷申病毒1多蛋白的核糖体跳读位点(P2A)(AA 976至997,GenBankID:CAB40546.1,突变残基P977S)隔开。P2A两侧侧翼上各有弗林蛋白酶切割位点(氨基酸:RAKR)。所有DNA序列均是经密码子优化的(IDTDNA,Coralville,IA)。

[0366] 结果

[0367] 临床研究已表明,对BCMA CAR T治疗的抗性可能是由于肿瘤抑制微环境(某种程度上是在骨髓中)而出现的。为了更好地装备BCMA CAR T细胞以应对肿瘤抑制情况,D100 CAR序列已与诱饵TGFβ受体组合,以产生经武装BCMA CAR(图9A)。TGFBRII DN诱饵受体包含胞外配体结合结构域和TGFβRII的跨膜区,但缺少TGFβ受体的胞内信号传导激酶结构域。BCMA CAR100和TGFβ诱饵序列在EF-1α启动子控制下的慢病毒载体骨架中的双顺反子表达盒中组合,以促进CAR和诱饵受体多蛋白二者在T细胞中的同等共表达(图9A)。这种经武装BCMA CAR构建体被称为D158。实现了将D158构建体成功转导到人原代T细胞中(图9B)。为了评价经武装BCMA CAR D158功能,对两轮靶标添加进行了与RPMI-8226靶细胞的实验性共培养(图9C)。将与经武装CAR构建体D158共有CAR序列但缺乏经武装诱饵元件的CAR D100纳入比较(图9D、9E)。在共孵育期间,用10ng/ml可溶性TGFβ处理共培养物的亚组,以模拟免疫抑制性肿瘤微环境。在第一轮和第二轮共孵育中,与无TGFβ的培养物相比,D100 BCMA CAR在可溶性TGFβ存在下的扩增受到抑制。相比之下,经武装BCMA CAR构建体D158的扩增不受TGFβ添加的影响(图9D)。随后,在第一轮共孵育的实验组之间,靶细胞计数类似地保持受到抑制,但在掺入了可溶性TGFβ的CAR 100组的第二轮中,靶细胞计数重新上升,而在整个实验中,无论是否添加TGFβ,经武装CAR均维持对肿瘤细胞扩增的强烈抑制(图9E)。这些发现证明了TGFβ武装的BCMA CAR T细胞在富含TGFβ的T细胞抑制性肿瘤环境中的保护作用。

[0368] 肿瘤微环境中TGFβ的来源可包括肿瘤细胞或基质细胞,RPMI-8226多发性骨髓瘤细胞能够产生非活性形式的TGFβ(图10A),其然后可以通过体内肿瘤微环境的其他元件转化为其活性形式。

[0369] 在体内RPMI-8226皮内异种移植模型中评价了经武装BCMA CAR D158和相应的非武装D100 BCMA CAR(图10B)。尽管在用未经转导T细胞(UTD)处理的小鼠中观察到预料不到的抗肿瘤作用,但经武装CAR D158与具有相同CAR序列的非武装CAR形式D100相比,表现出更优异的肿瘤控制(图10C)。在此小鼠模型中,经武装CAR D158和非武装CAR D100二者均介导了100%的存活(图10D)。在CAR施用之后6天收获的肿瘤组织中,与用非武装CAR D100处理的小鼠肿瘤相比,用经武装BCMA CAR D158处理的小鼠肿瘤包含更高的绝对T细胞计数(图10E)和T细胞百分比(图10F)。另外,经武装CAR D158介导肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocyte,TIL)上更高的PD-1表达(图10G),和更高的TIL记忆细胞分数(图10H)。这些观察结果表明,与非武装CAR D100相比,经武装CAR D158具有更强的T细胞活化和更大的记忆形成。总体而言,与非武装CAR D100相比,经武装BCMA CAR D158在体内表现出更强效的抗肿瘤活性、更大的肿瘤浸润、更强的活化和记忆形成。所有这些特征都表明经武装CAR D158具有潜在的更大临床益处。

[0370] 本文中引用的每个申请和专利,以及每个申请和专利中引用的每个文件或参考文献(包括在每个已授权的专利的审查期间;“申请引用文件”),以及对应于这些申请和专利中任一个和/或要求这些申请和专利中任一个的优先权的每个PCT和外国申请或专利,以及在每个申请引用文件中引用或参考的每个文件,都在此通过引用明确地并入本文,并且可用于本发明的实践中。更一般地,本文中引用了文件或参考文献,不管是在权利要求书之前的参考列表中还是在正文本身中;并且,这些文件或参考文献(“本文引用参考文献”)中的每一个,以及每个本文引用参考文献中引用的每个文件或参考文献(包括任何制造商的说

明书、说明等),都在此通过引用明确地并入本文。

[0371] 一些具体实施方案的前述说明提供了足够的信息,使得其他人通过应用当前知识可容易地修改或改编多种应用(例如具体实施方案)而不脱离一般概念,并且因此,这样的改编和修改应当并且旨在在所公开的实施方案的等同方案的含义和范围内理解。应理解,本文中使用的措辞或术语是出于描述而非限制的目的。在附图和说明书中,已公开了示例性实施方案,并且尽管可能已采用了特定术语,但是除非另有说明,否则它们仅以一般性和描述性含义使用并且不用于限制目的,因此权利要求书的范围不限于此。此外,本领域技术人员将理解,本文中讨论的方法的某些步骤可以以替代顺序排序,或者可将步骤进行组合。因此,所附权利要求书旨在不受限于本文中公开的具体实施方案。本领域技术人员将认识到或能够使用不超过常规的实验确定本文中描述的本发明实施方案的许多等同方案。这样的等同方案涵盖在以下权利要求书中。

[0372] 序列表的引用

[0373] 本申请包含通过名为“Sequence Listing”的PDF文件以电子方式提交给美国专利及商标局(United States Patent and Trademark Office)的序列表。该序列表通过引用并入。

[0374] 本公开内容的序列

[0375] 如37 C.ER.1.822中所限定的,使用核苷酸碱基的标准字母缩写和氨基酸的三字母代码来示出下文所列的核酸和氨基酸序列。仅示出每个核酸序列的一条链,但互补链被理解为通过对所示链的任何引用而被包含在内。在所附序列表中:

[0376] SEQ ID NO:1 BCMA ScFv结合物MTB-1的核苷酸序列

[0377]
GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGATGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATTGG
GAGGGCTATGAGGGAGGGGTGAAATGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCG
TCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGA
TCCCGAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG
AGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATT
TAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTAC
GATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGAAGTGG
ATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATA

TTGCAACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCTCGTACACTTTTGGCC
AGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGT

[0378] SEQ ID NO:2 BCMA ScFv结合物MTB-1的氨基酸序列

EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYYCARDWE

[0379] GYEGGVKWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSSLSASVGDR
VTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDF
TFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLSYTFGQGTKLEIKR

[0380] SEQ ID NO:3 BCMA ScFv结合物MTB-2的核苷酸序列
GAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGTAGCTATTGGAT
GAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGT
ATTAATGGGAGTGGCGATAGAACATATTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
GTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTCTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCCGAAGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAACTATAAT
TACGATGATAATAGTGGTTATGGCCTGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT

[0381] CTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGAT
CCCAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGAAAG
ACGGCCAGGATTACCTGTGGGGGAAACAACATTGGAAGTAAAAGTGTGC
ACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCCTGTGCTGGTCATCTATGAT
GATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTC
TGGGAACACAGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAA
GCCGACTATTACTGTCAGGTGTGGGACAGTAGTAGTGATCATTGGGTGTT
CGGCGGAGGGACCAAGGTCACCGTCCTAGGT

[0382] SEQ ID NO:4 BCMA ScFv结合物MTB-2的氨基酸序列
EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVSGI
NGSGDRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCANYNYD

[0383] DNSGYGLGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSVAPGKTARI
TCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVIYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLT
ISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHWVFGGGTKVTVLG

[0384] SEQ ID NO:5 BCMA ScFv结合物MTB-3的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCATCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAAAGACGAC
TACGGTGGTAACTCCGAGGGTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC

[0385] CGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCG
GATCCGAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCTAG
GAGAGAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAACAG
CTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCT
ATGATGCATCCACGAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGT
GGGTCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAGCCTGAAGA
TTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGATCACCTTCGG
CCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGA

[0386] SEQ ID NO:6 BCMA ScFv结合物MTB-3的氨基酸序列

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDDY

[0387] GGNSEGDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSVSLGER
ATLSCRASQSVSNSLAWYQQKPGQAPRLLIYDASTRATGIPARFSGSGSGTEF
TLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKR

[0388] SEQ ID NO:7 BCMA ScFv结合物MTB-4的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGATGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATTGG
GAGGGCTATGAGGGAGGGGTGAAATGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCG

[0389] TCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGA
TCCGAAATTGTGCTGACTCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTATTT
AAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACG
ATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGAAGTGGA
TCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATATT
GCAACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCTCGTACACTTTTGGCCAG
GGGACCAAGCTGGAGATCAAACGT

[0390] SEQ ID NO:8 BCMA ScFv结合物MTB-4的氨基酸序列

EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYYCARDWE

[0391] GYEGGVKWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSSLSASVGDR
VTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDF
TFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLSYTFGQGTKLEIKR

[0392] SEQ ID NO:9 BCMA ScFv结合物MB-5的核苷酸序列

GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCAT
GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTTA
TACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGA
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAA
CAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATTGGG
CCGGGGATTGTACTAATGGCCAATGCGGCGTCTACTGGGGCCAGGGAACC

[0393] CTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGG
TGGTGGCGGATCCGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGT
CACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCC
TGCATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGG
CAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTC
CCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAAT
CAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTC
TACAAACTCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGT

[0394] SEQ ID NO:10 BCMA ScFv结合物MTB-5的氨基酸序列

EVQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDWA

[0395] GDCTNGQCGVYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVT
PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRF
SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKR

[0396] SEQ ID NO:11 BCMA ScFv结合物MTB-14的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGCGATGAC
TACGGTGGTAACTCCGGGACTAGCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC

[0397] CGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCG
GATCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG
GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTAT
TTAAATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA
CGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTG
GATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGAT
TTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCCGTGACGTTCGGC
GGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGT

[0398] SEQ ID NO:12 BCMA ScFv结合物MTB-14的氨基酸序列

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVSDDYG

[0399] GNSGTSYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR
VTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPVTFGGGTKLTVLG

[0400] SEQ ID NO:13前导/信号肽序列的核苷酸序列

[0401] atgctgctgctggtgaccagcctgctgctgtgcgaactgccgcatccggcgtttctgctgattccg

[0402] SEQ ID NO:14前导/信号肽序列的氨基酸序列

[0403] MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIP

[0404] SEQ ID NO:15 BCMA ScFv结合物MTB-15的核苷酸序列

[0405] CAGGTGCAGCTGGTGGAGACCGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAAAGATTGG
GATTGTACTGGTGGTGTATGCCCCCTTGGGGGCTGGGGCCAGGGAACCCT
GGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTG
GTGGCGGATCCGACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT
CTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGT
GGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCT

GATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTG
GCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGATCACC
TTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGA

[0406] SEQ ID NO:16 BCMA ScFv结合物MTB-15的氨基酸序列

[0407] QVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDWD
CTGGVCPLGGWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVG
DRVTITCRASQSISGYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKR

[0408] SEQ ID NO:17 BCMA ScFv结合物MTB-16的核苷酸序列

GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCAT
GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTTA
TACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGA
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAA
CAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACCTTA
ATGACTACGGTGACCCGCCCCCTTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC
GTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGG

[0409] ATCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG
AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATT
TAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTAC
GATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCTCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGG
ATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAGCCTGAAGATT

TTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGATCACCTTCGGCC
AAGGGACACGACTGGAGATTAAACGA

[0410] SEQ ID NO:18 BCMA ScFv结合物MTB-16的氨基酸序列

EVQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLND

[0411] YGDPPPYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR
VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVSSRFSGSGSGTEFT
LTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKR

[0412] SEQ ID NO:19 BCMA ScFv结合物MTB-25的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGGAGGCTTAGTTCAGCCTGGGGGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCAT
GCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTTA
TACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGA
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAA
CAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTCG
AAATGACTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGA

[0413] GGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGAAATTGT
GCTGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTC
CATATTTTGTAGGTCTAGTCAGAGTCTCCTGCATGAAAATGGATACAACT
ATTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATC
TATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGT
GGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGG
ATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACCCCTCGAACTTTTG
GCCAGGGGACCAAGCTGGAAACCAAACGT

[0414] SEQ ID NO:20 BCMA ScFv结合物MTB-25的氨基酸序列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLEM

[0415] TDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPGEPASIFCR
SSQSLLHENGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDF
TLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRTFGQGTKLETKR

[0416] SEQ ID NO:21 BCMA ScFv结合物MTB-28的核苷酸序列

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATTCG
TATAGCAGCAGCGGGGACCCCCGGGCGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAA

[0417] CCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGC
GGTGGTGGCGGATCCAATTTTATGCTGACTCAGCCCCACTCTGTGTCGGA
GTCTCCGGGGAAGACGGTAACCATCTCCTGCACCGGCAGCAGTGGCAGCA
TTGCCAGCAACTATGTGCAGTGGTACCAGCAGCGCCCGGGCAGTGCCCCC
TCCACTGTCATCTTTGAGGATAACCAAAGACCCTCTGGGGTCCCTGGTCG
GTTCTCTGGCTCCGTCGACAGGTCCTCCAACTCTGCCTCCCTCACCATCTC
TGGACTGAAGACTGAGGACGAGGCTGACTACTATTGTCAGTCTTATGATA
GCAACAATCGGGGTCTGTTCGGCGGAGGGACCAAGGTCACCGTCCTAGGT

[0418] SEQ ID NO:22 BCMA ScFv结合物MTB-28的氨基酸序列

QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDSYS

[0419] SSGDPRAFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSNFMLTQPHSVSESPG
KTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPSTVIFEDNQRPSGVPGRFSGSVD
RSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSNNRGLFGGGTKVTVLG

[0420] SEQ ID NO:23 BCMA ScFv结合物MTB-37的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAAAGATTGG
GAATATAGTGGCTACGATGCCCACCCGGGGTGGGGCCAGGGAACCCTGG

[0421] TCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGT
GGCGGATCCGACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT
GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGGCATTAGCA
GTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTG
ATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGG
CAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAGCCTG
AAGATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGATCACCT
TCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGA

[0422] SEQ ID NO:24 BCMA ScFv结合物MTB-37的氨基酸序列

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDWE

[0423]

YSGYDAHPGWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSASVG
DRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGT
EFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKR

[0424] SEQ ID NO:25 BCMA ScFv结合物MTB-39的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTGGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGG
GCTCGGAATGATTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGG

[0425] AGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCAATTTTA
TGCTGACTCAGCCCCACTCTGTGTCGGAGTCTCCGGGGAAGACGGTAACC
ATCTCCTGCACCCGCAGCAGTGGCAGCATTGCCAGCAACTATGTGCAGTG
GTACCAGCAGCGCCCGGGCAGTGCCCCCACCACTGTGATCTATGAGGATA
ACCAAAGACCCTCTGGGGTCCCTGATCGGTTCTCTGGCTCCATCGACAGC
TCCTCCAACTCTGCCTCCCTCACCATCTCTGGACTGAAGACTGAGGACGA
GGCTGACTACTACTGTCAGACTTATGATGACAACAATCATGTCATTTTCGG
CGGAGGGACCCAGCTCACCGTTTTAGGT

[0426] SEQ ID NO:26 BCMA ScFv结合物MTB-39的氨基酸序列

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGAR

[0427] NDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSNFMLTQPHSVSESPGKTVTISC
TRSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPTTVIYEDNQRPSGVPDRFSGSIDSSSNSASL
TISGLKTEDEADYYCQTYDDNNHVIFGGGTQLTVLG

[0428] SEQ ID NO:27 DNA CD8跨膜结构域的核苷酸序列

[0429] atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc acccttttact gc

[0430] SEQ ID NO:28 CD8跨膜结构域的氨基酸序列

[0431] Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

[0432] SEQ ID NO:29 DNA CD8铰链结构域的核苷酸序列

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg

[0433] tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgat

[0434] SEQ ID NO:30 CD8铰链结构域的氨基酸序列

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

[0435] Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr

[0436] SEQ ID NO:31 CD8.α.(NCBI RefSeq:NP.sub.--001759.3)第118至178位氨基酸铰链区的氨基酸序列

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

[0437] Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

[0438] SEQ ID NO:32人IgG CL序列的氨基酸序列

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro

[0439] Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

[0440] SEQ ID NO:33 4-1BB的DNA信号传导结构域的核苷酸序列

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa

[0441] actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactg

[0442] SEQ ID NO:34 4-1BB的信号传导结构域的氨基酸序列

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

[0443] Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

[0444] SEQ ID NO:35 CD3-ζ的DNA信号传导结构域的核苷酸序列

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat

[0445] gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc

[0446] SEQ ID NO:36 CD3ζ的氨基酸序列

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

[0447] Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

[0448] SEQ ID NO:37 ScFv CD 19的核苷酸序列

gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcaccatcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatttaa attggtatca gcagaaacca gatggaactg ttaaactcct gatctaccat acatcaagat tacactcagg agtcccatca aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg gggaccaagc tggagatcac

[0449] aggtggcggt ggctcgggcg gtggtgggtc gggtggcggc ggatctgagg tgaaactgca ggagtcagga cctggcctgg tggcgccctc acagagcctg tccgtcacat gcactgtctc aggggtctca ttacccgact atggtgtaag ctggattcgc cagcctccac gaaagggtct ggagtggctg ggagtaatat ggggtagtga aaccacatac tataattcag ctctcaaatc cagactgacc atcatcaagg acaactccaa gagccaagtt ttcttaaaaa tgaacagtct gcaaactgat gacacagcca tttactactg tgccaaacat tattactacg gtggtagcta tgctatggac tactggggcc aaggaacctc agtcaccgtc tcctca

[0450] SEQ ID NO:38 ScFv CD 19的氨基酸序列

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr His Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly

[0451] Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Thr Gly Gly Gly Gly Ser 100 105 110 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

[0452] SEQ ID NO:39 GMCSF前导肽的核苷酸序列

[0453] ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTCTGCTGATTCCG

[0454] SEQ ID NO:40 GMCSF前导肽的氨基酸序列

[0455] MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIP

[0456] SEQ ID NO:41 TNFRSF19前导肽的核苷酸序列

[0457] GGCTCTGAAAGTGCTGTTGGAACAAGAAAAGACCTTCTTCACCTTGCTCGTGTTGCTGGGGTACCTGTCCTGCAAAGTCACCTGT

[0458] SEQ ID NO:42 TNFRSF19前导肽的氨基酸序列

[0459] MALKVLLEQEKTFFTLLVLLGYLSCKVTC

[0460] SEQ ID NO:43 CD8α前导肽的核苷酸序列

[0461] atggcgctgccggtgaccgcgctgctgctgccgctggcgctgctgctgcatgcggcgcgccccg

[0462] SEQ ID NO:44 CD8α前导肽的氨基酸序列

[0463] MALPVTALLLPLALLLHAARP

[0464] SEQ ID NO:45 CD28共刺激结构域的核苷酸序列

[0465] CGGTCGAAGAGGTCCAGACTCTTGCACTCCGACTACATGAACATGACTCCTAGAAGGCCCGGACCCACTAGAAAGCACTACCAGCCGTACGCCCCTCCTCGGGATTTCGCCGCATACCGG TCC

[0466] SEQ ID NO:46 CD28共刺激结构域的氨基酸序列

[0467] RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

[0468] SEQ ID NO:47 CD3ζ活化结构域的核苷酸序列

[0469] AGAGTGAAGTTCAGCCGCTCAGCCGATGCACCGGCCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTCTACAACGAGCTCAACCTGGGTCGGCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAACGGCGCGGCAGAGATCCGGAGATGGGGGGAAAGCCGAGGAGGAAGAACCCTCAAGAGGGCCTGTACAACGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCCGAGATCGGCATGAAGGGAGAACGCCGGAGAGGGAAGGGTCATGACGGACTGTACCAGGGCCTGTCAACTGCCACTAAGGACACTTACGATGCGCTCCATATGCAAGCTTTGCCCCCGCGG

[0470] SEQ ID NO:48 CD3ζ活化结构域的氨基酸序列

[0471] RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR

[0472] SEQ ID NO:49 TNFRSF19铰链和跨膜结构域的核苷酸序列(跨膜结构域带下划线)

[0473] GCGGCCGCGGTCGGATTCCAAGACATGGAATGCGTGCCCTGCGGCGACCC GCCACCTCCTTACGAGCCGCACTGCGCATCGAAGGTCAACCTCGTGAAGA TCGCGAGCACCGCGTCCTCACCCCGGGATACTGCTCTGGCCGCCGTGATTT GTTCCGCCTTGGCCACCGTGCTTCTGGCCCTGCTGATCCTCTGTGTGATC

[0474] SEQ ID NO:50 TNFRSF19铰链和跨膜结构域的氨基酸序列(跨膜结构域带下划线)

[0475] AAAVGFQDMECVPCGDPPPP YEPHCASKVNLVKIAST ASSPRDTAL AAVICSALATVLLALLILCVI

[0476] SEQ ID NO:51 TNFRSF19跨膜结构域的核苷酸序列

[0477] GCCGCCGTGATTTGTTCCGCCTTGGCCACCGTGCTTCTGGCCCTGCTGATC CTCTGTGTGATC

[0478] SEQ ID NO:52 TNFRSF19跨膜结构域的氨基酸序列

[0479] AAVICSALATVLLALLILCVI

[0480] SEQ ID NO:53 TNFRSF19铰链结构域的核苷酸序列

[0481] GCGGCCGCGGTCGGATTCCAAGACATGGAATGCGTGCCCTGCGGCGACCC GCCACCTCCTTACGAGCCGCACTGCGCATCGAAGGTCAACCTCGTGAAGA TCGCGAGCACCGCGTCCTCACCCCGGGATACTGCTCTG

[0482] SEQ ID NO:54 TNFRSF19铰链结构域的氨基酸序列

[0483] AAAVGFQDMECVPCGDPPPPYEPHCASKVNLVKIASTA SSPRDTAL

[0484] SEQ ID NO:55截短的TNFRSF19铰链结构域的核苷酸序列

[0485] TACGAGCCTCACTGCGCCAGCAAAGTCAACTTGGTGAAGATCGCGAGCAC TGCCTCGTCCCCTCGGGACACTGCTCTGGC

[0486] SEQ ID NO:56截短的TNFRSF19铰链结构域的氨基酸序列

[0487] YEPHCASKVNLVKIASTASSPRDTAL

[0488] SEQ ID NO:57与TNFRSF19跨膜结构域融合的CD8a铰链结构域的核苷酸序列(跨膜序列带下划线)

[0489] GCGGCCGCGCCCGCCCCTCGGCCCCCGACTCCTGCCCCGACGATCGCTTCC CAACCTCTCTCGCTGCGCCCGGAAGCATGCCGGCCCGCCGCCGGTGGCGC TGTCCACACTCGCGGACTGGACTTTGATACCGCACTGGCGGCCGTGATCT GTAGCGCCCTGGCCACCGTGCTGCTGGCGCTGCTCATCCTTTGCGTGATCT ACTGCAAGCGGCAGCCTAGG

[0490] SEQ ID NO:58与TNFRSF19跨膜结构域融合的CD8a铰链结构域的氨基酸序列(跨膜序列带下划线)

[0491] AAAPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFDTAL AAVICSALATVLLALLILCVIYCKRQPR

[0492] SEQ ID NO:59 CD28共刺激结构域的核苷酸序列

[0493] CGGTCGAAGAGGTCCAGACTCTTGCACTCCGACTACATGAACATGACTCC TAGAAGGCCCGGACCCACTAGAAAGCACTACCAGCCGTACGCCCCTCCTC GGGATTTCGCCGCATACCGGTCC

[0494] SEQ ID NO:60 CD28共刺激结构域的氨基酸序列

[0495] RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

[0496] SEQ ID NO:61 CD3ζ形式2的核苷酸序列

[0497] cgcgtgaaatttagccgcagcgcggatgcgccggcgtatcagcagggccagaaccagctg tataacgaactgaacctgggccgccgcgaagaatatgatgtgctggataaacgccgcggc cgcgatccggaaatgggcggcaaaccgcgccgcaaaaacccgcaggaaggcctgtataac gaactgcagaaagataaaatggcggaagcgtatagcgaaattggcatgaaaggcgaacgc cgccgcggcaaaggccatgatggcctgtatcagggcctgagcaccgcgaccaaagatacc tatgatgcgctgcatatgcaggcgctgccgccgcgc

[0498] SEQ ID NO:62 CD3ζ形式2的氨基酸序列

[0499] R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P E M G G K P R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R

[0500] SEQ ID NO:63弗林蛋白酶P2A弗林蛋白酶的核苷酸序列

[0501] CGCGCGAAACGCAGCGGCAGCGGCGCGACCAACTTTAGCCTGCTGAAAC AGGCGGGCGAT GTGGAAGAAAACCCGGGCCCGCGAGCAAAGAGG

[0502] SEQ ID NO:64弗林蛋白酶P2A弗林蛋白酶的氨基酸序列(弗林蛋白酶序列带下划线)

[0503] RAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPRAKR

[0504] SEQ ID NO:65弗林蛋白酶T2A的核苷酸序列

[0505] AGAGCTAAACGCTCTGGGTCTGGTGAAGGACGAGGTAGCCTTCTTACGTG CGGAGACGTGGAGGAAAACCCAGGACCC

[0506] SEQ ID NO:66弗林蛋白酶T2A的氨基酸序列(弗林蛋白酶序列带下划线)

[0507] RAKRSGSGEGRGSLLTCGDVEENPGP

[0508] SEQ ID NO:67截短的EGFR(tEGFR)标签的核苷酸序列

AGGAAGGTTTGCAATGGAATCGGTATAGGGGAGTTTAAGGATTCACTTAG
CATAAACGCTACTAATATTAAACACTTCAAAAACTGTACGAGTATAAGTG
GAGATCTTCACATTTTGCCGGTTGCATTCCGAGGCGATTCATTCACCCACA
CGCCACCGCTTGACCCACAAGAATTGGATATTCTTAAAACCGTTAAAGAA
ATAACGGGGTTTTTGCTCATTCAAGCGTGGCCAGAAAATCGCACTGACCT
CCATGCTTTCGAGAACCTGGAGATTATAAGAGGACGAACTAAGCAGCAT
GGTCAATTCTCCCTTGCTGTGGTCAGCCTGAACATCACCAGTCTTGGTTTG
CGGTCCCTCAAGGAAATTTCAGATGGAGATGTCATCATAAGCGGCAACAA
GAATTTGTGCTATGCAAATACCATAAACTGGAAAAAACTGTTTGGCACTT
CCGGCCAGAAAACCAAGATTATTTCAAATCGGGGTGAGAACAGCTGCAA
AGCCACCGGCCAGGTTTGTCATGCCTTGTGCTCTCCGGAAGGCTGTTGGG
[0509] GGCCAGAACCCAGGGACTGCGTCAGTTGCAGAAACGTCTCAAGAGGCCG
CGAATGCGTTGACAAGTGTAACCTCCTTGAGGGTGAGCCACGAGAGTTTG
TTGAGAACAGCGAGTGTATACAATGTCACCCTGAATGTTTGCCCCAGGCT
ATGAATATAACCTGCACAGGCCGCGGGCCTGATAACTGCATCCAGTGTGC
TCATTACATAGATGGACCTCACTGTGTGAAAACCTGCCCGGCCGGAGTTA
TGGGAGAAAACAACACTCTGGTGTGGAAATACGCTGATGCAGGCCACGTG
TGCCACCTTTGTCACCCGAATTGTACATATGGGTGTACCGGTCCTGGACTT

GAAGGTTGCCCTACCAATGGCCCTAAAATACCCAGTATCGCAACTGGCAT
GGTAGGCGCTCTTCTCTTGCTCTTGGTAGTTGCTCTCGGCATAGGTCTTTTT
ATG

[0510] SEQ ID NO:68截短的EGFR(tEGFR)标签的氨基酸序列

RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLD
PQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVS
LNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGEN
[0511] SCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREF
VENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMG
ENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPTNGPKIPSIATGMVG
ALLLLLVVALGIGLFM

[0512] SEQ ID NO:69 BCMA ScFv结合物MTB-40的核苷酸序列

CAGGCGGCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTA
GCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGG
GTGGCATTTATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGT
GAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATC
TGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AAAGAACCCCCCGAGTATTACTATGATAGTAGTGGTTATTCGTGGGGCCA
[0513] GGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCG
GTAGCGGTGGTGGCGGATCCGACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCC
CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCA
GGACATTGACACCTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCC
CTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCTCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAG
TCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCC
CCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGA

[0514] SEQ ID NO:70 BCMA ScFv结合物MTB-40的氨基酸序列

QAAEVQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW
VAFIRYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK

[0515] EPPEYYYDSSGYSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLSA
SVGDRVTITCQASQDIDTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVSSRFSGSG
SGTEFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKR

[0516] SEQ ID NO:71 BCMA ScFv结合物MTB-49的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA
TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT
ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGTGAGCGATGAC
TACGGTGGTAACTCCGGGACTAGCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAC

[0517] CGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCG
GATCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG
GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAGCAACTAT
TTAAATTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA
CGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGT
GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGA
TTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCCGTGACGTTCGG
CGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGT

[0518] SEQ ID NO:72 BCMA ScFv结合物MTB-49的氨基酸序列

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVSDDYG

[0519] GNSGTSYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDR
VTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPVTFGGGTKLTVLG

[0520] SEQ ID NO:73 BCMA ScFv结合物MTB-50的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGCCTGGGGGGT
CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTACTTATGAAA
TGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGCTTGCATAC
ATTGGAGGTAGTGGTAGTCCCATATACTACGCAGACTCTGTGAGGGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAACACCAAGAATTCACTATTTCTCCAAATGA
GCAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCTGTTTACTATTGTGTGGAAGGGTGG
TTTGACAAGTGGGGCCTGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGG
CGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGACATCCAGTTGA

[0521] CCCAGTCTCCATCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCA
CTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG
AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGA
GACAGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTC

ACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGT
CAACAGAGTTACAGTACCCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGA
AATCAAACGT

[0522] SEQ ID NO:74 BCMA ScFv结合物MTB-50的氨基酸序列

EVQLVQSGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFSTYEMNWVRQAPGKGLEWLAYI
GGSGSPIYYADSVRGRFTISRDNTKNSLFLQMSSLRAEDTAVYYCVEGWFDK

[0523] WGLGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS
QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIKR

[0524] SEQ ID NO:75 BCMA ScFv结合物MTB-4-12的核苷酸序列

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGTC
CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGTTACGTTAT
ACATTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGCTA
TATCGCATGATGGAAGCAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGA
TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTTCAAATGAG
CAGTCTGAGCGCTGAGGACACGGCTATGTATTACTGTGTGAAAACTAGTA
GTGATTATTACTACGCCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCT

[0525] CAGGAGGTGGCGGGTCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCCA
GACTGTGGTGACTCAGGAGCCATCGTTCTCAGTGTCCCCTGGAGGGACAG
TCACACTCACTTGTGGCTTGAGCTCTGGCTCAGTCTCTACTGGCAACTCCC
CCACCTGGTACCAGCAGACCCCAGGCCAGGCTCCACGCACGCTCATCTAC
AGCACAAACACTCGCTCTTCTGGGGTCCCTGATCGCTTCTCTGGCTCCATC
CTTGGGAACAAAGCTGCCCTCACCATCACGGGGGCCCAGGCAGATGATGA
ATCTGATTATTACTGTGTGCTGTATATGGGTAGTGGCTATTGGGTGTTCGG
CGGAGGGACCAAGGTCACCGTCCTAGGT

[0526] SEQ ID NO:76 BCMA ScFv结合物MTB-4-12的氨基酸序列

QVQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYVIHWVRQAPGKGLEWVAAI
SHDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLSAEDTAMYYCVKTSSD

[0527] YYYAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSFSVSPGGTVTL
TCGLSSGSVSTGNSPTWYQQTPGQAPRTLIYSTNTRSSGVPDRFSGSILGNKA
ALTITGAQADDESDYYCVLYMGSGYWVFGGGTKVTVLG

[0528] SEQ ID NO:77 BCMA ScFv结合物MTB-4-45的核苷酸序列

GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCT
CAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTCCACCAGCTACTAT
ATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA
TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGC
AGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGC
TGAGCAGCTTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAT
TTGGGTGATGGCGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGT

[0529] CTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGAT
CCGACATCCAGATGACCCAGTCTCTATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG
ACAGAGTCACCATCGCTTGCCGGGCAAGTCAGACCATTAGTAGGTATTTA
AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC
TGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCTCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGAT
CTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAGCCTGAAGATTTT
GCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGATCACCTTCGGCCAA
GGGACACGACTGGAGATTAAACGA

[0530] SEQ ID NO:78 BCMA ScFv结合物MTB-4-45的氨基酸序列

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTSTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGI
INPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDLGD

[0531] GAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSLSSLSASVGDRVTI
ACRASQTISRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVSSRFSGSGSGTEFTLTI
SSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKR

[0532] SEQ ID NO:79人IgG4铰链的核苷酸序列

[0533] GAGAGCAAATACGGGCCGCCATGTCCCCCGTGTCCG

[0534] SEQ ID NO:80人IgG4铰链的氨基酸序列

[0535] ESKYGPPCPPCP

[0536] SEQ ID NO:81人IgG4 CH2结构域的核苷酸序列

GCACCACCAGTTGCTGGCCCTAGTGTCTTCTTGTTCCCTCCCAAGCCCAAA
GACACCTTGATGATTTCCAGAACTCCTGAGGTTACCTGCGTTGTCGTAGAT
GTTTCTCAGGAGGACCCAGAGGTCCAATTTAACTGGTACGTTGATGGGGT

[0537] GGAAGTTCACAATGCGAAGACAAAGCCGCGGGAAGAACAATTTCAGTCC
ACTTACCGGGTTGTCAGCGTTCTGACGGTATTGCATCAAGACTGGCTTAAT
GGAAAGGAATATAAGTGTAAGGTGTCCAACAAAGGTTTGCCGAGCAGTAT
TGAGAAGACCATATCAAAGGCGAAG

[0538] SEQ ID NO:82人IgG4 CH2结构域的氨基酸序列

APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV

[0539] DGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS
SIEKTISKA K

[0540] SEQ ID NO:83人IgG4 CH3结构域的核苷酸序列

GGGCAGCCGCGCGAGCCACAAGTTTACACTTTGCCGCCATCTCAAGAGGA
AATGACTAAAAACCAGGTATCCTTGACATGCCTCGTAAAAGGATTTTATC
CATCTGATATTGCTGTGGAATGGGAGTCTAACGGGCAGCCGGAAAATAAT
[0541] TACAAAACTACACCACCTGTGCTCGATTCAGATGGAAGTTTCTTCCTTTAC
AGTAGACTTACGGTGGACAAATCTAGGTGGCAGGAAGGGAATGTGTTTAG
TTGTAGTGTAATGCACGAGGCACTTCATAACCACTATACACAGAAGTCAC
TGAGTTTGAGTCTTGGCAAA

[0542] SEQ ID NO:84人IgG4 CH3结构域的氨基酸序列

GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
[0543] TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
LGK

[0544] SEQ ID NO:85人IgG4铰链CH2 CH3结构域的核苷酸序列

GAGAGCAAATACGGGCCGCCATGTCCCCCGTGTCCGGCACCACCAGTTGCTGGC
CCTAGTGTCTTCTTGTTCCCTCCCAAGCCCAAAGACACCTTGATGATTTCCAGAA
CTCCTGAGGTTACCTGCGTTGTCGTAGATGTTTCTCAGGAGGACCCAGAGGTCCA
ATTTAACTGGTACGTTGATGGGGTGGAAGTTCACAATGCGAAGACAAAGCCGCG
GGAAGAACAATTTCAGTCCACTTACCGGGTTGTCAGCGTTCTGACGGTATTGCAT
CAAGACTGGCTTAATGGAAAGGAATATAAGTGTAAGGTGTCCAACAAAGGTTTG
[0545] CCGAGCAGTATTGAGAAGACCATATCAAAGGCGAAGGGGCAGCCGCGCGAGCC
ACAAGTTTACACTTTGCCGCCATCTCAAGAGGAAATGACTAAAAACCAGGTATC
CTTGACATGCCTCGTAAAAGGATTTTATCCATCTGATATTGCTGTGGAATGGGAG
TCTAACGGGCAGCCGGAAAATAATTACAAAACTACACCACCTGTGCTCGATTCA
GATGGAAGTTTCTTCCTTTACAGTAGACTTACGGTGGACAAATCTAGGTGGCAGG
AAGGGAATGTGTTTAGTTGTAGTGTAATGCACGAGGCACTTCATAACCACTATAC
ACAGAAGTCACTGAGTTTGAGTCTTGGCAAA

[0546] SEQ ID NO:86人IgG4铰链CH2 CH3结构域的氨基酸序列

ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
[0547] KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
K

[0548] SEQ ID NO:87 D0084(Ef1a-BCMA序列5 CD8 BBz)的核苷酸序列

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTTCTGTGTGAACTGCCGCATCCGGCGTTTC
[0549] TGCTGATTCCGGAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGAGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GTGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGG
CATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTTAT

ACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAC
CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG
AGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATTGGGCCGGGGATTGTAC
TAATGGCCAATGCGGCGTCTACTGGGGACAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
GGAGGTGGCGGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGAAATTGTG
TTGACGCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCT
CCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTG
GTACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAAT
CGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTT
ACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATG
CAAGCTCTACAAACTCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA

[0550] CGTGCGGCCGCAACGACCACTCCTGCACCCCGCCCTCCGACTCCGGCCCCAACCA
TTGCCAGCCAGCCCCTGTCCCTGCGGCCGGAAGCCTGCAGACCGGCTGCCGGCG
GAGCCGTCCATACCCGGGGACTGGATTTCGCCTGCGATATCTATATCTGGGCACC
ACTCGCCGGAACCTGTGGAGTGCTGCTGCTGTCCCTTGTGATCACCCTGTACTGC
AAGCGCGGACGGAAGAAACTCTTGTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCT
GTGCAAACCACCCAAGAAGAGGACGGGTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAA
GAGGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCG
TACCAGCAGGGGCAAAACCAGCTGTACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAA
GAATATGACGTGCTGGACAAGCGGCGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAA
GCCGCGGCGGAAGAACCCTCAGGAGGGCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACA
AAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGATTGGCATGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGG
AAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGACTGTCAACCGCGACTAAGGACACTTAC
GACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCGCGC

[0551] SEQ ID NO:88 D0084(Ef1a-BCMA序列5 CD8 BBz)的氨基酸序列

[0552] MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMH
WVRQAPGKGLEWVAFIRYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCARDWAGDCTNGQCGVYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQ
SPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVP
DRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKRAAATTTPA

[0553] PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL
VITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADA
PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKD
KMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0554] SEQ ID NO:89 D0085(Ef1a-BCMA序列16 CD8 BBz)的核苷酸序列

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTTCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTC
TGTTGATTCCGGAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGG
CATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTTAT
ACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAC
CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG
AGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACCTTAATGACTACGGTGA
CCCACCCCCTTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGC
GGATCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGACATCCAGATGACCCAG

[0555] TCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGG
CAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAG
CCCCTAAGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCTCATCAAG
GTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAG
CCTGAAGATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGATCACCTT
CGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAGCGGCCGCAACGACCACTCCTGC
ACCCCGCCCTCCGACTCCGGCCCCAACCATTGCCAGCCAGCCCCTGTCCCTGCGG
CCGGAAGCCTGCAGACCGGCTGCCGGCGGAGCCGTCCATACCCGGGGACTGGAT
TTCGCCTGCGATATCTATATCTGGGCACCACTCGCCGGAACCTGTGGAGTGCTGC
TGCTGTCCCTTGTGATCACCCTGTACTGCAAGCGCGGACGGAAGAAACTCTTGTA
CATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGTGCAAACCACCCAAGAAGAGGACGG
GTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAA
GTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCAAAACCAGCTGTA
CAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAGCGGCG

[0556] GGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAGGAGG
GCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGATTG
GCATGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGA
CTGTCAACCGCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCC
CGCGC

[0557] SEQ ID NO:90 D0085(Ef1a-BCMA序列16 CD8 BBz)的氨基酸序列

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMH
WVRQAPGKGLEWVAFIRYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCARDLNDYGDPPPYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVSSRFSGSGSGT

[0558] EFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKRAAATTTPAPRPPTPAPTIASQP
LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK
GERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0559] SEQ ID NO:91 D0086(Ef1a-BCMA序列37 CD8 BBz)的核苷酸序列

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTTCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCG
TTTCTGTTGATTCCGGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTC
AAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTC

[0560] AGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGA
GTGGGTGGCATTTATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGACT
CCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTG
TATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTG
TGCGAAAGATTGGGAATATAGTGGATACGATGCACACCCGGGATGGGGTC
AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCTTCAGGAGGTGGTGGGTCTGGTGGAGGC
GGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTC
CCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTC
AGGGCATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCT
CCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAG
TCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCC
CCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAGCGGCCG
CAACGACCACTCCTGCACCCCGCCCTCCGACTCCGGCCCCAACCATTGCC
AGCCAGCCCCTGTCCCTGCGGCCGGAAGCCTGCAGACCGGCTGCCGGCGG

[0561] AGCCGTCCATACCCGGGGACTGGATTTCGCCTGCGATATCTATATCTGGGC
ACCACTCGCCGGAACCTGTGGAGTGCTGCTGCTGTCCCTTGTGATCACCCT
GTACTGCAAGCGCGGACGGAAGAAACTCTTGTACATCTTCAAGCAGCCGT
TCATGCGCCCTGTGCAAACCACCCAAGAAGAGGACGGGTGCTCCTGCCGG
TTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAGTTTTCCCG
GTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCAAAACCAGCTGTACAACG
AACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAGCGGCGG
GGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAGG
AGGGCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTC
CGAGATTGGCATGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGA
CTGTACCAGGGACTGTCAACCGCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCA
CATGCAGGCCCTGCCCCCGCGC

[0562] SEQ ID NO:92 D0086(Ef1a-BCMA序列37 CD8 BBz)的氨基酸序列

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHW
VRQAPGKGLEWVAFIRYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA
VYYCAKDWEYSGYDAHPGWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSL
SASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGT

[0563] EFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKRAAATTTPAPRPPTPAPTIASQP
LSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL
LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN
ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK
GERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0564] SEQ ID NO:93 D0087_LTG2092(Ef1a-BCMA序列40 CD8 BBz)的核苷酸序列

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTTCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTC
TTCTGATTCCGGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGG
CATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTTAT
ACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAC
CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG
AGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAAAGAACCCCCCGAGTATTACTAT
GATAGTAGTGGTTATTCGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGAG
GTGGCGGGTCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGACATCCAGTTGA
CCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG
CCAGGCGAGTCAGGACATTGACACCTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGG
GAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCTCA
TCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTC
TGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGAT

[0565] CACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAGCGGCCGCAACGACCAC
TCCTGCACCCCGCCCTCCGACTCCGGCCCCAACCATTGCCAGCCAGCCCCTGTCC
CTGCGGCCGGAAGCCTGCAGACCGGCTGCCGGCGGAGCCGTCCATACCCGGGGA
CTGGATTTCGCCTGCGATATCTATATCTGGGCACCACTCGCCGGAACCTGTGGAG
TGCTGCTGCTGTCCCTTGTGATCACCCTGTACTGCAAGCGCGGACGGAAGAAACT
CTTGTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGTGCAAACCACCCAAGAAGAG
GACGGGTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCGGCTGCGAACTGCGC
GTGAAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCAAAACCAG
CTGTACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAG
CGGCGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCA

GGAGGGCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGA
GATTGGCATGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACC
AGGGACTGTCAACCGCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCC
TGCCCCCGCGC

[0566] SEQ ID NO:94 D0087_LTG2092(Ef1a-BCMA序列40 CD8 BBz)的氨基酸序列

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMH
WVRQAPGKGLEWVAFIRYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCAKEPPEYYYDSSGYSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPS
SLSASVGDRVTITCQASQDIDTYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVSSRFSGSGS

[0567] GTEFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKRAAATTTPAPRPPTPAPTIAS
QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK
KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQL
YNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG
MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0568] SEQ ID NO:95 D0099_LTG2944(Ef1a-BCMA序列4-12 CD8 BBz)的核苷酸序列

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTC
TGCTGATTCCGCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGTAGTTACGT

[0569] TATACATTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGCTAT
ATCGCATGATGGAAGCAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAC
CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTTCAAATGAGCAGTCTGAGC
GCTGAGGACACGGCTATGTATTACTGTGTGAAAACTAGTAGTGATTATTACTACG
CCTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGGTCTG

GTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCCAGACTGTGGTGACTCAGGAGCCAT
CGTTCTCAGTGTCCCCTGGAGGGACAGTCACACTCACTTGTGGCTTGAGCTCTGG
CTCAGTCTCTACTGGCAACTCCCCCACCTGGTACCAGCAGACCCCAGGCCAGGCT
CCACGCACGCTCATCTACAGCACAAACACTCGCTCTTCTGGGGTCCCTGATCGCT
TCTCTGGCTCCATCCTTGGGAACAAAGCTGCCCTCACCATCACGGGGGCCCAGGC
AGATGATGAATCTGATTATTACTGTGTGCTGTATATGGGTAGTGGCTATTGGGTG
TTCGGCGGAGGGACCAAGGTCACCGTCCTAGGTGCGGCCGCAACGACCACTCCT
GCACCCCGCCCTCCGACTCCGGCCCCAACCATTGCCAGCCAGCCCCTGTCCCTGC
GGCCGGAAGCCTGCAGACCGGCTGCCGGCGGAGCCGTCCATACCCGGGGACTGG
[0570] ATTTCGCCTGCGATATCTATATCTGGGCACCACTCGCCGGAACCTGTGGAGTGCT
GCTGCTGTCCCTTGTGATCACCCTGTACTGCAAGCGCGGACGGAAGAAACTCTTG
TACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGTGCAAACCACCCAAGAAGAGGAC
GGGTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCGGCTGCGAACTGCGCGTG
AAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCAAAACCAGCTG
TACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAGCGG
CGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAGGA
GGGCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGAT
TGGCATGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACCAGG
GACTGTCAACCGCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGC
CCCCGCGC

[0571] SEQ ID NO:96D0099_LTG2944(Ef1a-BCMA序列4-12 CD8 BBz)的氨基酸序列

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPQVQLVQSGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYVIHW
VRQAPGKGLEWVAAISHDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMSSLSAEDTA
MYYCVKTSSDYYYAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSFSVSP
GGTVTLTCGLSSGSVSTGNSPTWYQQTPGQAPRTLIYSTNTRSSGVPDRFSGSILGNK
[0572] AALTITGAQADDESDYYCVLYMGSGYWVFGGGTKVTVLGAAATTTPAPRPPTPAPT

IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRG
RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQN
QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE
IGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0573] SEQ ID NO:97 D0100_LTG2945(Ef1a-BCMA序列4-45 CD8 BBz)的核苷酸序列

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTC
TGCTGATTCCGGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTG
GGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTCCACCAGCTACTA
TATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATAAT
CAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCAC
CATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCTTGAG
ATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTTGGGTGATGGCGCTTTT
GATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCT
GGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCTA
TCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCGCTTGCCGGGCAAGTC
AGACCATTAGTAGGTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCTCATCAAGGTTCAG
TGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAGCCTGAA
GATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGATCACCTTCGGCCA
AGGGACACGACTGGAGATTAAACGAGCGGCCGCAACGACCACTCCTGCACCCCG
CCCTCCGACTCCGGCCCCAACCATTGCCAGCCAGCCCCTGTCCCTGCGGCCGGAA
GCCTGCAGACCGGCTGCCGGCGGAGCCGTCCATACCCGGGGACTGGATTTCGCC
TGCGATATCTATATCTGGGCACCACTCGCCGGAACCTGTGGAGTGCTGCTGCTGT
CCCTTGTGATCACCCTGTACTGCAAGCGCGGACGGAAGAAACTCTTGTACATCTT
CAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGTGCAAACCACCCAAGAAGAGGACGGGTGCTC
CTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAGTTTTC

[0574]

CCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCAAAACCAGCTGTACAACGA
ACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCTGGACAAGCGGCGGGGAAG
AGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGAACCCTCAGGAGGGCTTGTA
CAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCTACTCCGAGATTGGCATGAA
GGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGACTGTCAA
CCGCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCGCGC

[0575] SEQ ID NO:98D0100_LTG2945(Ef1a-BCMA序列4-45 CD8 BBz)的氨基酸序列

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTSTSYYMH
WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT
AVYYCARDLGDGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSLSSLSA
SVGDRVTIACRASQTISRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVSSRFSGSGSGTEF

[0576] TLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKRAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY
IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL
NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE
RRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0577] SEQ ID NO:99 D0153(BCMA 4-1c CD8 BBz)的核苷酸序列
ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTC
TGCTGATTCCGGAGGTGCAGCTGGTGGAGACCGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTG
GGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGG

[0578] CATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTTAT
ACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCAC
CATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG
AGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAAAGATTGGGATACGTATTACTAT

GATAGTAGTGGTTATGATCGGGCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCT
CAGGAGGTGGCGGGTCTGGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGACATCC
AGATGACCCAGTCTCCCTCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCAT
CACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAACAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAA
ACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGG
GTCTCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCA
GCAGTCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCC
CCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAGCGGCCGCAAC
GACCACTCCTGCACCCCGCCCTCCGACTCCGGCCCCAACCATTGCCAGCCAGCCC
CTGTCCCTGCGGCCGGAAGCCTGCAGACCGGCTGCCGGCGGAGCCGTCCATACC

[0579] CGGGGACTGGATTTCGCCTGCGATATCTATATCTGGGCACCACTCGCCGGAACCT
GTGGAGTGCTGCTGCTGTCCCTTGTGATCACCCTGTACTGCAAGCGCGGACGGAA
GAAACTCTTGTACATCTTCAAGCAGCCGTTCATGCGCCCTGTGCAAACCACCCAA
GAAGAGGACGGGTGCTCCTGCCGGTTCCCGGAAGAGGAAGAGGGCGGCTGCGA
ACTGCGCGTGAAGTTTTCCCGGTCCGCCGACGCTCCGGCGTACCAGCAGGGGCA
AAACCAGCTGTACAACGAACTTAACCTCGGTCGCCGGGAAGAATATGACGTGCT
GGACAAGCGGCGGGGAAGAGATCCCGAGATGGGTGGAAAGCCGCGGCGGAAGA
ACCCTCAGGAGGGCTTGTACAACGAGCTGCAAAAGGACAAAATGGCCGAAGCCT
ACTCCGAGATTGGCATGAAGGGAGAGCGCAGACGCGGGAAGGGACACGATGGA
CTGTACCAGGGACTGTCAACCGCGACTAAGGACACTTACGACGCCCTGCACATG
CAGGCCCTGCCCCCGCGC

[0580] SEQ ID NO:100 D0153(BCMA 4-1c CD8 BBz)的氨基酸序列

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMH
WVRQAPGKGLEWVAFIRYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED
TAVYYCAKDWDTYYYDSSGYDRAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMT
QSPSSLSASVGDRVTITCQASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVSSRFS
GSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKRAAATTTPAPRPPTPA

[0581]

PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCK
RGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQG
QNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

[0582] SEQ ID NO:101D0158(BCMIA 4-45 CD8 BBz 2A TGFBRIIdn)的核苷酸序列

ATGCTGCTGCTGGTGACCAGCCTGCTGCTGTGCGAACTGCCGCATCCGGCGTTTC

TGCTGATTCCGGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTG

GGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTCCACCAGCTACTA

TATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATAAT

CAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCAC

CATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCTTGAG

ATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTTGGGTGATGGCGCTTTT

GATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCT

GGTGGAGGCGGTAGCGGTGGTGGCGGATCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCTA

TCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCGCTTGCCGGGCAAGTC

[0583] AGACCATTAGTAGGTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA

AGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCTCATCAAGGTTCAG

TGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAGCCTGAA

GATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTTACAGTCCCCCGATCACCTTCGGCCA

AGGGACACGACTGGAGATTAAACGAGCGGCCGCTACCACAACCCCTGCGCCCCG

GCCTCCTACCCCCGCACCCACGATTGCTTCTCAACCTCTTTCACTCCGACCTGAGG

CTTGTAGACCTGCAGCCGGGGGTGCCGTCCACACACGGGGACTCGACTTCGCTTG

TGATATATATATTTGGGCGCCCCTGGCCGGCACTTGTGGAGTTCTTTTGCTCTCTC

TTGTTATCACATTGTACTGCAAGCGAGGTAGGAAGAAATTGCTTTACATTTTTAA

GCAGCCGTTCATGCGACCAGTACAGACTACTCAAGAAGAAGATGGGTGCTCTTG

TCGGTTCCCGGAAGAAGAAGAGGGTGGTTGCGAGTTGAGGGTGAAGTTCTCCCG

CTCTGCCGACGCACCGGCATATCAGCAGGGACAAAACCAGCTCTACAACGAATT
GAACCTGGGTCGGCGGGAAGAATATGACGTGCTCGATAAGCGGCGGGGTCGCGA
CCCAGAAATGGGAGGCAAACCGCGCAGGAAAAATCCACAGGAGGGACTTTATA
ACGAACTTCAAAAGGATAAGATGGCAGAGGCATACAGCGAAATCGGGATGAAA
GGCGAGAGAAGAAGGGGGAAAGGGCACGATGGTCTTTACCAGGGGCTTTCTACC
GCGACGAAGGATACCTACGATGCTCTCCATATGCAAGCACTTCCTCCTAGACGGG
CAAAGCGGGGCTCAGGGGCGACTAACTTTTCACTGTTGAAGCAGGCCGGGGATG
TGGAGGAGAATCCTGGTCCTAGAGCTAAGCGAGTAGACATGGGAAGAGGGCTGC
TCCGAGGCTTGTGGCCGTTGCATATTGTATTGTGGACGCGGATAGCGAGTACAAT

[0584] CCCGCCTCACGTGCAAAAATCAGTTAATAACGACATGATCGTTACTGACAACAAT
GGCGCAGTTAAATTTCCGCAGCTTTGTAAATTCTGTGATGTAAGATTTTCAACGT
GCGATAACCAGAAAAGCTGTATGTCCAACTGCAGCATCACATCAATCTGTGAAA
AACCCCAAGAGGTATGTGTGGCCGTCTGGCGAAAGAATGACGAAAATATCACAC
TGGAGACCGTTTGTCACGATCCTAAACTCCCTTATCATGACTTTATTCTGGAAGA
CGCAGCGTCACCGAAGTGTATAATGAAAGAGAAGAAGAAGCCTGGAGAGACGT
TTTTCATGTGCAGTTGCTCCTCAGATGAGTGTAATGACAACATCATTTTTTCCGAG
GAGTACAATACGAGTAACCCAGACCTCCTGCTGGTTATTTTCCAGGTAACCGGCA
TCAGTTTGTTGCCCCCACTGGGTGTTGCAATCAGTGTAATAATCATATTTTATTGT
TACCGGGTGTGATAA

[0585] SEQ ID NO:102 D0158(BCMA 4-45 CD8 BBz 2A TGFBRIIdn)的氨基酸序列

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTSTSYYMH
WVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT
AVYYCARDLGDGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSLSSLSA

[0586] SVGDRVTIACRASQTISRYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVSSRFSGSGSGTEF
TLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKRAAATTTPAPRPPTPAPTIASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY
IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL
NLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE
RRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRAKRGSGATNFSLLKQAGDVEE
NPGPRAKRVDMGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVK

[0587] FPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHD
PKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLL
VIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCYRV

[0588] SEQ ID NO:103结合物4-1c VH的核苷酸序列

[0589] GAGGTGCAGCTGGTGGAGACCGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGGGGT CCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCA TGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCATTT ATACGGTATGATGGAAGTAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCG ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAAAGATTGG GATACGTATTACTATGATAGTAGTGGTTATGATCGGGCCTGGGGCCAGGG AACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

[0590] SEQ ID NO:104结合物4-1c VH的氨基酸序列

EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIRYDG

[0591] SNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDWDTYYYDSSGY DRAWGQGTLVTVSS

[0592] SEQ ID NO:105结合物4-1c VL的核苷酸序列

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCCTCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAG

[0593] TCACCATCACTTGCCAGGCGAGTCAGGACATTAACAACTATTTAAATTGGTATCA GCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCA AAGTGGGGTCTCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTC ACCATCAGCAGTCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTTCTGTCAACAGACTT ACAGTCCCCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAGC

[0594] SEQ ID NO:106结合物4-1c VL的氨基酸序列

[0595] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDINNYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VSSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYFCQQTYSPPITFGQGTRLEIKR

[0596] SEQ ID NO:107弗林蛋白酶P2A弗林蛋白酶的核苷酸序列

[0597] CGGGCAAAGCGGGGCTCAGGGGCGACTAACTTTTCACTGTTGAAGCAGGCCGGG GATGTGGAGGAGAATCCTGGTCCTAGAGCTAAGCGA

[0598] SEQ ID NO:108弗林蛋白酶P2A弗林蛋白酶的氨基酸序列(弗林蛋白酶切割位点带下划线)

[0599] RAKRGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPRAKR

[0600] SEQ ID NO:109TGFBRIIdn的核苷酸序列

ATGGGAAGAGGGCTGCTCCGAGGCTTGTGGCCGTTGCATATTGTATTGTGGACGC

GGATAGCGAGTACAATCCCGCCTCACGTGCAAAAATCAGTTAATAACGACATGA

TCGTTACTGACAACAATGGCGCAGTTAAATTTCCGCAGCTTTGTAAATTCTGTGA

TGTAAGATTTTCAACGTGCGATAACCAGAAAAGCTGTATGTCCAACTGCAGCATC

ACATCAATCTGTGAAAAACCCCAAGAGGTATGTGTGGCCGTCTGGCGAAAGAAT

[0601] GACGAAAATATCACACTGGAGACCGTTTGTCACGATCCTAAACTCCCTTATCATG ACTTTATTCTGGAAGACGCAGCGTCACCGAAGTGTATAATGAAAGAGAAGAAGA AGCCTGGAGAGACGTTTTTCATGTGCAGTTGCTCCTCAGATGAGTGTAATGACAA CATCATTTTTTCCGAGGAGTACAATACGAGTAACCCAGACCTCCTGCTGGTTATT TTCCAGGTAACCGGCATCAGTTTGTTGCCCCCACTGGGTGTTGCAATCAGTGTAA TAATCATATTTTATTGTTACCGGGTG

[0602] SEQ ID NO:110 TGFBRIIdn的氨基酸序列

[0603] MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDV
RFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILE
DAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLP
PLGVAISVIIIFYCYRV

<110> Lentigen Technology, Inc.

<120> 用于用抗BCMA免疫治疗来治疗癌症的组合物和方法

<130> 42449-0044WO1

<150> US 62/854,574
<151> 2019-05-30

<160> 110

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 727
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-1

<400> 1
gaggtgcagc tggtggagac tgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgatgac acggctgtgt attactgtgc gagagattgg 300

gagggctatg agggaggggt gaaatggggc cagggcaccc tggtcaccgt ctcctcagga 360

ggtggcggat ctggtggagg cggtagcggt ggtggcggat cccgaaattg tgctgactca 420

[0001] gtctccatcc tccctgtctg catctgtagg agacagagtc accatcactt gccaggcgag 480

tcaggacatt agcaactatt taaattggta tcagcagaaa ccagggaaag cccctaagct 540

cctgatctac gatgcatcca atttggaaac aggggtccca tcaaggttca gtggaagtgg 600

atctgggaca gattttactt tcaccatcag cagcctgcag cctgaagata ttgcaacata 660

ttactgtcaa cagtatgata atctctcgta cacttttggc caggggacca agctggagat 720

caaacgt 727

<210> 2
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-1

<400> 2

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Trp Glu Gly Tyr Glu Gly Gly Val Lys Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
130 135 140

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser
145 150 155 160

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
165 170 175

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val
180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
195 200 205

[0002]

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220

Tyr Asp Asn Leu Ser Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240

Lys Arg

<210> 3
<211> 729
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-2

<400> 3
gaggtgcagc tggtgcaatc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attaatggga gtggcgatag aacatattac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctctat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaagac acggccgtat attactgtgc gaactataat 300

tacgatgata atagtggtta tggcctgggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctcagga 360

ggtggcggat ctggtggagg cggtagcggt ggtggcggat cccagtctgt gctgactcag 420

ccaccctcgg tgtcagtggc cccaggaaag acggccagga ttacctgtgg gggaaacaac 480

attggaagta aaagtgtgca ctggtaccag cagaagccag gccaggcccc tgtgctggtc 540

atctatgatg atagcgaccg gccctcaggg atccctgagc gattctctgg ctccaactct 600

gggaacacag ccaccctgac catcagcagg gtcgaagccg gggatgaagc cgactattac 660

tgtcaggtgt gggacagtag tagtgatcat tgggtgttcg gcggagggac caaggtcacc 720

gtcctaggt 729

<210> 4
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-2

<400> 4

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

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

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

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

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

[0003]

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

Ala Asn Tyr Asn Tyr Asp Asp Asn Ser Gly Tyr Gly Leu Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val
130 135 140

Ser Val Ala Pro Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn
145 150 155 160

Ile Gly Ser Lys Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
165 170 175

Pro Val Leu Val Ile Tyr Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro
180 185 190

Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile
195 200 205

Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp
210 215 220

Asp Ser Ser Ser Asp His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr

225 230 235 240

Val Leu Gly

<210> 5
<211> 729
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-3

<400> 5

[0004]

gaggtgcagc tggtggagtc cgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag catctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactac 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagacgac 300

tacggtggta actccgaggg tgactactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

ggaggtggcg gatctggtgg aggcggtagc ggtggtggcg gatccgaaat tgtgttgaca 420

cagtctccag ccaccctgtc tgtgtctcta ggagagagag ccaccctctc ctgcagggcc 480

agtcagagtg ttagcaacag cttagcctgg tatcagcaga aacctggcca ggctcccagg 540

ctcctcatct atgatgcatc cacgagggcc actggcatcc cagccaggtt cagtggcagt 600

gggtctggga cagagttcac tctcaccatc agcagtctgc agcctgaaga ttttgcaact 660

tatttctgtc aacagactta cagtcccccg atcaccttcg gccaagggac acgactggag 720

attaaacga 729

<210> 6
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-3

<400> 6

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Asp Tyr Gly Gly Asn Ser Glu Gly Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala
130 135 140

Thr Leu Ser Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala
145 150 155 160

Ser Gln Ser Val Ser Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly
180 185 190

Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
195 200 205

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln
210 215 220

Gln Thr Tyr Ser Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu
225 230 235 240

[0005] Ile Lys Arg

<210> 7
<211> 726
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-4

<400> 7
gaggtgcagc tggtggagac tgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgatgac acggctgtgt attactgtgc gagagattgg 300

gagggctatg agggaggggt gaaatggggc cagggcaccc tggtcaccgt ctcctcagga 360

ggtggcggat ctggtggagg cggtagcggt ggtggcggat ccgaaattgt gctgactcag 420

tctccatcct ccctgtctgc atctgtagga gacagagtca ccatcacttg ccaggcgagt 480

caggacatta gcaactattt aaattggtat cagcagaaac cagggaaagc ccctaagctc 540

ctgatctacg atgcatccaa tttggaaaca ggggtcccat caaggttcag tggaagtgga 600

tctgggacag attttacttt caccatcagc agcctgcagc ctgaagatat tgcaacatat 660

tactgtcaac agtatgataa tctctcgtac acttttggcc aggggaccaa gctggagatc 720

aaacgt 726

<210> 8
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-4

<400> 8

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Trp Glu Gly Tyr Glu Gly Gly Val Lys Trp Gly Gln Gly
100 105 110

[0006]

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser
130 135 140

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser
145 150 155 160

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
165 170 175

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val
180 185 190

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr
195 200 205

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220

Tyr Asp Asn Leu Ser Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240

Lys Arg

<210> 9

<211> 753
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MB-5

<400> 9
gaggtccagc tggtgcagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagattgg 300

gccggggatt gtactaatgg ccaatgcggc gtctactggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctcag gaggtggcgg atctggtgga ggcggtagcg gtggtggcgg atccgaaatt 420

gtgttgacgc agtctccact ctccctgccc gtcacccctg gagagccggc ctccatctcc 480

tgcaggtcta gtcagagcct cctgcatagt aatggataca actatttgga ttggtacctg 540

cagaagccag ggcagtctcc acagctcctg atctatttgg gttctaatcg ggcctccggg 600

gtccctgaca ggttcagtgg cagtggatca ggcacagatt ttacactgaa aatcagcaga 660

gtggaggctg aggatgttgg ggtttattac tgcatgcaag ctctacaaac tccgtacact 720

tttggccagg ggaccaagct ggagatcaaa cgt 753

<210> 10
<211> 251
[0007] <212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-5

<400> 10

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Trp Ala Gly Asp Cys Thr Asn Gly Gln Cys Gly Val Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser
145 150 155 160

Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu
165 170 175

Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
180 185 190

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
210 215 220

Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
245 250

<210> 11
<211> 729
<212> DNA
<213> 人工的

[0008] <220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-14

<400> 11
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgt gagcgatgac 300

tacggtggta actccgggac tagctactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

ggaggtggcg gatctggtgg aggcggtagc ggtggtggcg gatccgacat ccagatgacc 420

cagtctccat cctccctgtc tgcatctgta ggagacagag tcaccatcac ttgccaggcg 480

agtcaggaca ttagcaacta tttaaattgg tatcagcaga agccagggaa agcccctaag 540

ctcctgatct acgatgcatc caatttggaa acaggggtcc catcaaggtt cagtggcagt 600

ggatctggga cagatttcac tctcaccatc agcagtctgc aacctgaaga ttttgcaact 660

tactactgtc aacagagtta cagtaccccc gtgacgttcg gcggagggac caagctgacc 720

gtcctaggt 729

<210> 12
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-14

<400> 12

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Ser Asp Asp Tyr Gly Gly Asn Ser Gly Thr Ser Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140

[0009]

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala
145 150 155 160

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly
180 185 190

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220

Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Val Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
225 230 235 240

Val Leu Gly

<210> 13
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 前导/信号肽序列

<400> 13

atgctgctgc tggtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttctgctg 60

attccg 66

<210> 14
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 前导/信号肽序列

<400> 14

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
20

<210> 15
<211> 735
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-15

<400> 15
caggtgcagc tggtggagac cgggggaggc gtggtccagc ctgggggGtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

[0010]

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagattgg 300

gattgtactg gtggtgtatg ccccCttggg ggctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 360

tcctcaggag gtggcggatc tggtggaggc ggtagcggtg gtggcggatc cgacatccag 420

ttgacccagt ctccatcctc cctgtctgca tctgtaggag acagagtcac catcacttgc 480

cgggcaagtc agagcattag tggctattta aattggtatc agcagaaacc agggaaagcc 540

cctaagctcc tgatctatgc tgcatccagt ttgcaaagtg gggtcccatc aaggttcagt 600

ggcagtggat ctgggacaga gttcactctc accatcagca gtctgcagcc tgaagatttt 660

gcaacttatt tctgtcaaca gacttacagt cccccgatca ccttcggcca agggacacga 720

ctggagatta aacga 735

<210> 16
<211> 245
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-15

<400> 16

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Trp Asp Cys Thr Gly Gly Val Cys Pro Leu Gly Gly Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
145 150 155 160

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
165 170 175

[0011] Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln
180 185 190

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe
195 200 205

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe
210 215 220

Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg
225 230 235 240

Leu Glu Ile Lys Arg
245

<210> 17
<211> 729
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-16

<400> 17
gaggtccagc tggtgcagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactac 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagacctt 300

aatgactacg gtgacccgcc cccttactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

ggaggtggcg gatctggtgg aggcggtagc ggtggtggcg gatccgacat ccagatgacc 420

cagtctccat cctccctgtc tgcatctgta ggagacagag tcaccatcac ttgccgggca 480

agtcagagca ttagcagcta tttaaattgg tatcagcaga aaccagggaa agcccctaag 540

ctcctgatct acgatgcatc caatttggaa acaggggtct catcaaggtt cagtggcagt 600

ggatctggga cagagttcac tctcaccatc agcagtctgc agcctgaaga ttttgcaact 660

tatttctgtc aacagactta cagtcccccg atcaccttcg gccaagggac acgactggag 720

attaaacga 729

<210> 18
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-16

<400> 18

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

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

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

[0012]

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Leu Asn Asp Tyr Gly Asp Pro Pro Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145 150 155 160

Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly
180 185 190

Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu

195 200 205

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln
210 215 220

Gln Thr Tyr Ser Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu
225 230 235 240

Ile Lys Arg

<210> 19
<211> 732
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-25

<400> 19

[0013]

gaggtgcagc tggtggagtc cgggggaggc ttagttcagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatctc 300

gaaatgactg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctcagg aggtggcgga 360

tctggtggag gcggtagcgg tggtggcgga tccgaaattg tgctgactca gtctccactc 420

tccctgcccg tcacccctgg agagccggcc tccatatttt gtaggtctag tcagagtctc 480

ctgcatgaaa atggatacaa ctatttggat tggtacctgc agaagccagg gcagtctcca 540

cagctcctga tctatttggg ttctaatcgg gcctccgggg tccctgacag gttcagtggc 600

agtggatcag gcacagattt tacactgaaa atcagcagag tggaggctga ggatgttggg 660

gtttattact gcatgcaagc tctacaaacc cctcgaactt ttggccaggg gaccaagctg 720

gaaaccaaac gt 732

<210> 20
<211> 244
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-25

<400> 20

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Leu Glu Met Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
130 135 140

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Phe Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu
145 150 155 160

Leu His Glu Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
180 185 190

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

[0014]

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Thr Lys Arg

<210> 21
<211> 750
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-28

<400> 21
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagattcg 300

tatagcagca gcggggaccc ccgggcgttc gacccctggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcctcag gaggtggcgg atctggtgga ggcggtagcg gtggtggcgg atccaatttt 420

atgctgactc agccccactc tgtgtcggag tctccgggga agacggtaac catctcctgc 480

accggcagca gtggcagcat tgccagcaac tatgtgcagt ggtaccagca gcgcccgggc 540

agtgcccccc ccactgtcat ctttgaggat aaccaaagac cctctggggt ccctggtcgg 600

ttctctggct ccgtcgacag gtcctccaac tctgcctccc tcaccatctc tggactgaag 660

actgaggacg aggctgacta ctattgtcag tcttatgata gcaacaatcg gggtctgttc 720

ggcggaggga ccaaggtcac cgtcctaggt 750

<210> 22
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-28

<400> 22

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

[0015]

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

Ala Arg Asp Ser Tyr Ser Ser Ser Gly Asp Pro Arg Ala Phe Asp Pro
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln
130 135 140

Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys Thr Val Thr Ile Ser Cys
145 150 155 160

Thr Gly Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn Tyr Val Gln Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro Ser Thr Val Ile Phe Glu Asp Asn Gln
180 185 190

Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Val Asp Arg Ser
195 200 205

Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu
210 215 220

Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Asn Asn Arg Gly Leu Phe

225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
245 250

<210> 23
<211> 732
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-37

<400> 23
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagattgg 300

gaatatagtg gctacgatgc ccacccgggg tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tcaggaggtg gcggatctgg tggaggcggt agcggtggtg gcggatccga catccagttg 420

acccagtctc catcctccct gtctgcatct gtaggagaca gagtcaccat cacttgccgg 480

gcaagtcagg gcattagcag tgctttagcc tggtatcagc agaaaccagg gaaagctcct 540

aagctcctga tctatgatgc ctccagtttg gaaagtgggg tcccatcaag gttcagtggc 600

agtggatctg ggacagagtt cactctcacc atcagcagtc tgcagcctga agattttgca 660

[0016]

acttatttct gtcaacagac ttacagtccc ccgatcacct tcggccaagg gacacgactg 720

gagattaaac ga 732

<210> 24
<211> 244
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-37

<400> 24

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Trp Glu Tyr Ser Gly Tyr Asp Ala His Pro Gly Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys
210 215 220

Gln Gln Thr Tyr Ser Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu
225 230 235 240

[0017] Glu Ile Lys Arg

<210> 25
<211> 729
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-39

<400> 25
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt ggctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatggg 300

gctcggaatg attactgggg ccagggcacc ctggtcaccg tctcctcagg aggtggcgga 360

tctggtggag gcggtagcgg tggtggcgga tccaatttta tgctgactca gccccactct 420

gtgtcggagt ctccggggaa gacggtaacc atctcctgca cccgcagcag tggcagcatt 480

gccagcaact atgtgcagtg gtaccagcag cgcccgggca gtgcccccac cactgtgatc 540

tatgaggata accaaagacc ctctggggtc cctgatcggt tctctggctc catcgacagc 600

tcctccaact ctgcctccct caccatctct ggactgaaga ctgaggacga ggctgactac 660

tactgtcaga cttatgatga caacaatcat gtcattttcg gcggagggac ccagctcacc 720

gttttaggt 729

<210> 26
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-39

<400> 26

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

[0018]

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser
130 135 140

Pro Gly Lys Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile
145 150 155 160

Ala Ser Asn Tyr Val Gln Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Ser Ala Pro
165 170 175

Thr Thr Val Ile Tyr Glu Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Ile Asp Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr
195 200 205

Ile Ser Gly Leu Lys Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr
210 215 220

Tyr Asp Asp Asn Asn His Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr
225 230 235 240

Val Leu Gly

<210> 27

<211> 72
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> CD8跨膜结构域

<400> 27
atctacatct gggcgcccct ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60

acccttttact gc 72

<210> 28
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> CD8跨膜结构域

<400> 28

Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
1 5 10 15

Val Ile Thr Leu Tyr Cys
20

<210> 29
<211> 135
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
[0019] <223> CD8铰链结构域

<400> 29
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60

tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120

gacttcgcct gtgat 135

<210> 30
<211> 47
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> CD8铰链结构域

<400> 30

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
35 40 45

<210> 31
<211> 42
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 31

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> 32
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

[0020]

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 33
<211> 126
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 4-1BB的信号传导结构域

<400> 33
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120

gaactg 126

<210> 34
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 4-1BB的信号传导结构域

<400> 34

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> 35
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> CD3-ζ的信号传导结构域

<400> 35
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 36
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> CD3ζ

[0021]

<400> 36

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> 37
<211> 726
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> ScFv CD 19

<400> 37
gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60

atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gatggaactg ttaaactcct gatctaccat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240

gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggagatcac aggtggcggt ggctcgggcg gtggtgggtc gggtggcggc 360

ggatctgagg tgaaactgca ggagtcagga cctggcctgg tggcgccctc acagagcctg 420

tccgtcacat gcactgtctc aggggtctca ttacccgact atggtgtaag ctggattcgc 480

cagcctccac gaaagggtct ggagtggctg ggagtaatat ggggtagtga aaccacatac 540

tataattcag ctctcaaatc cagactgacc atcatcaagg acaactccaa gagccaagtt 600

ttcttaaaaa tgaacagtct gcaaactgat gacacagcca tttactactg tgccaaacat 660

tattactacg gtggtagcta tgctatggac tactggggcc aaggaacctc agtcaccgtc 720

tcctca 726

<210> 38
<211> 242
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> ScFv CD 19

<400> 38

[0022]

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 Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Gln Glu
115 120 125

Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys
130 135 140

Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg

145 150 155 160

Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser
165 170 175

Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile
180 185 190

Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln
195 200 205

Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly
210 215 220

Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val
225 230 235 240

Ser Ser

<210> 39
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> GMCSF前导肽

<400> 39
atgctgctgc tggtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttctgctg 60

[0023] attccg 66

<210> 40
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> GMCSF前导肽

<400> 40

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
20

<210> 41
<211> 85
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19前导肽

<400> 41
ggctctgaaa gtgctgttgg aacaagaaaa gaccttcttc accttgctcg tgttgctggg 60

gtacctgtcc tgcaaagtca cctgt 85

<210> 42
<211> 29
<212> PRT

<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19前导肽

<400> 42

Met Ala Leu Lys Val Leu Leu Glu Gln Glu Lys Thr Phe Phe Thr Leu
1 5 10 15

Leu Val Leu Leu Gly Tyr Leu Ser Cys Lys Val Thr Cys
20 25

<210> 43
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> CD8 α前导肽

<400> 43
atggcgctgc cggtgaccgc gctgctgctg ccgctggcgc tgctgctgca tgcggcgcgc 60

ccg 63

<210> 44
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> CD8 α前导肽

[0024] <400> 44

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro
20

<210> 45
<211> 123
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> CD28共刺激结构域

<400> 45
cggtcgaaga ggtccagact cttgcactcc gactacatga acatgactcc tagaaggccc 60

ggacccacta gaaagcacta ccagccgtac gcccctcctc gggatttcgc cgcataccgg 120

tcc 123

<210> 46
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> CD28共刺激结构域

<400> 46

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> 47
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> CD3ζ活化结构域

<400> 47
agagtgaagt tcagccgctc agccgatgca ccggcctacc agcagggaca gaaccagctc 60

tacaacgagc tcaacctggg tcggcgggaa gaatatgacg tgctggacaa acggcgcggc 120

agagatccgg agatgggggg aaagccgagg aggaagaacc ctcaagaggg cctgtacaac 180

gaactgcaga aggacaagat ggcggaagcc tactccgaga tcggcatgaa gggagaacgc 240

cggagaggga agggtcatga cggactgtac cagggcctgt caactgccac taaggacact 300

tacgatgcgc tccatatgca agctttgccc ccgcgg 336

<210> 48
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> CD3ζ活化结构域

[0025]

<400> 48

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> 49
<211> 201
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19铰链和跨膜结构域

<400> 49
gcggccgcgg tcggattcca agacatggaa tgcgtgccct gcggcgaccc gccacctcct 60

tacgagccgc actgcgcatc gaaggtcaac ctcgtgaaga tcgcgagcac cgcgtcctca 120

ccccgggata ctgctctggc cgccgtgatt tgttccgcct tggccaccgt gcttctggcc 180

ctgctgatcc tctgtgtgat c 201

<210> 50
<211> 67
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19铰链和跨膜结构域

<400> 50

Ala Ala Ala Val Gly Phe Gln Asp Met Glu Cys Val Pro Cys Gly Asp
1 5 10 15

Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Pro His Cys Ala Ser Lys Val Asn Leu Val
20 25 30

Lys Ile Ala Ser Thr Ala Ser Ser Pro Arg Asp Thr Ala Leu Ala Ala
35 40 45

Val Ile Cys Ser Ala Leu Ala Thr Val Leu Leu Ala Leu Leu Ile Leu
50 55 60

Cys Val Ile
[0026] 65

<210> 51
<211> 63
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19跨膜结构域

<400> 51
gccgccgtga tttgttccgc cttggccacc gtgcttctgg ccctgctgat cctctgtgtg 60

atc 63

<210> 52
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19跨膜结构域

<400> 52

Ala Ala Val Ile Cys Ser Ala Leu Ala Thr Val Leu Leu Ala Leu Leu
1 5 10 15

Ile Leu Cys Val Ile
20

<210> 53
<211> 138
<212> DNA

<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19铰链结构域

<400> 53
gcggccgcgg tcggattcca agacatggaa tgcgtgccct gcggcgaccc gccacctcct 60

tacgagccgc actgcgcatc gaaggtcaac ctcgtgaaga tcgcgagcac cgcgtcctca 120

ccccgggata ctgctctg 138

<210> 54
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19铰链结构域

<400> 54

Ala Ala Ala Val Gly Phe Gln Asp Met Glu Cys Val Pro Cys Gly Asp
1 5 10 15

Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Pro His Cys Ala Ser Lys Val Asn Leu Val
20 25 30

Lys Ile Ala Ser Thr Ala Ser Ser Pro Arg Asp Thr Ala Leu
35 40 45

<210> 55
<211> 80
[0027] <212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 截短的TNFRSF19铰链结构域

<400> 55
tacgagcctc actgcgccag caaagtcaac ttggtgaaga tcgcgagcac tgcctcgtcc 60

cctcgggaca ctgctctggc 80

<210> 56
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> TNFRSF19铰链结构域

<400> 56

Tyr Glu Pro His Cys Ala Ser Lys Val Asn Leu Val Lys Ile Ala Ser
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ser Pro Arg Asp Thr Ala Leu
20 25

<210> 57
<211> 222
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 与TNFRSF19跨膜融合的CD8a铰链结构域

<400> 57

gcggccgcgc ccgcccctcg gcccccgact cctgccccga cgatcgcttc ccaacctctc 60

tcgctgcgcc cggaagcatg ccggcccgcc gccggtggcg ctgtccacac tcgcggactg 120

gactttgata ccgcactggc ggccgtgatc tgtagcgccc tggccaccgt gctgctggcg 180

ctgctcatcc tttgcgtgat ctactgcaag cggcagccta gg 222

<210> 58
<211> 74
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 与TNFRSF19跨膜融合的CD8a铰链结构域

<400> 58

Ala Ala Ala Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Asp Thr Ala Leu Ala Ala
35 40 45

Val Ile Cys Ser Ala Leu Ala Thr Val Leu Leu Ala Leu Leu Ile Leu
50 55 60

Cys Val Ile Tyr Cys Lys Arg Gln Pro Arg
65 70

[0028]

<210> 59
<211> 123
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> CD28共刺激结构域

<400> 59
cggtcgaaga ggtccagact cttgcactcc gactacatga acatgactcc tagaaggccc 60

ggacccacta gaaagcacta ccagccgtac gcccctcctc gggatttcgc cgcataccgg 120

tcc 123

<210> 60
<211> 41
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> CD28共刺激结构域

<400> 60

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> 61
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> CD3ζ形式2

<400> 61
cgcgtgaaat ttagccgcag cgcggatgcg ccggcgtatc agcagggcca gaaccagctg 60

tataacgaac tgaacctggg ccgccgcgaa gaatatgatg tgctggataa acgccgcggc 120

cgcgatccgg aaatgggcgg caaaccgcgc cgcaaaaacc cgcaggaagg cctgtataac 180

gaactgcaga aagataaaat ggcggaagcg tatagcgaaa ttggcatgaa aggcgaacgc 240

cgccgcggca aaggccatga tggcctgtat cagggcctga gcaccgcgac caaagatacc 300

tatgatgcgc tgcatatgca ggcgctgccg ccgcgc 336

<210> 62
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> CD3ζ形式2

<400> 62

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15

[0029]

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> 63
<211> 93
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 弗林蛋白酶P2A弗林蛋白酶

<400> 63
cgcgcgaaac gcagcggcag cggcgcgacc aactttagcc tgctgaaaca ggcgggcgat 60

gtggaagaaa acccgggccc gcgagcaaag agg 93

<210> 64

<211> 31
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 弗林蛋白酶P2A弗林蛋白酶

<400> 64

Arg Ala Lys Arg Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys
1 5 10 15

Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg Ala Lys Arg
20 25 30

<210> 65
<211> 78
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 弗林蛋白酶T2A

<400> 65
agagctaaac gctctgggtc tggtgaagga cgaggtagcc ttcttacgtg cggagacgtg 60

gaggaaaacc caggaccc 78

<210> 66
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
[0030] <223> 弗林蛋白酶T2A

<400> 66

Arg Ala Lys Arg Ser Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr
1 5 10 15

Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 67
<211> 1005
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 截短的EGFR（tEGFR）标签

<400> 67
aggaaggttt gcaatggaat cggtataggg gagtttaagg attcacttag cataaacgct 60

actaatatta aacacttcaa aaactgtacg agtataagtg gagatcttca cattttgccg 120

gttgcattcc gaggcgattc attcacccac acgccaccgc ttgacccaca agaattggat 180

attcttaaaa ccgttaaaga aataacgggg tttttgctca ttcaagcgtg gccagaaaat 240

cgcactgacc tccatgcttt cgagaacctg gagattataa gaggacgaac taagcagcat 300

ggtcaattct cccttgctgt ggtcagcctg aacatcacca gtcttggttt gcggtccctc 360

aaggaaattt cagatggaga tgtcatcata agcggcaaca agaatttgtg ctatgcaaat 420

accataaact ggaaaaaact gtttggcact tccggccaga aaaccaagat tatttcaaat 480

cggggtgaga acagctgcaa agccaccggc caggtttgtc atgccttgtg ctctccggaa 540

ggctgttggg ggccagaacc cagggactgc gtcagttgca gaaacgtctc aagaggccgc 600

gaatgcgttg acaagtgtaa cctccttgag ggtgagccac gagagtttgt tgagaacagc 660

gagtgtatac aatgtcaccc tgaatgtttg ccccaggcta tgaatataac ctgcacaggc 720

cgcgggcctg ataactgcat ccagtgtgct cattacatag atggacctca ctgtgtgaaa 780

acctgcccgg ccggagttat gggagaaaac aacactctgg tgtggaaata cgctgatgca 840

ggccacgtgt gccacctttg tcacccgaat tgtacatatg ggtgtaccgg tcctggactt 900

gaaggttgcc ctaccaatgg ccctaaaata cccagtatcg caactggcat ggtaggcgct 960

cttctcttgc tcttggtagt tgctctcggc ataggtcttt ttatg 1005

<210> 68
<211> 335
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 截短的EGFR（tEGFR）标签

<400> 68

Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu
1 5 10 15

Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile
20 25 30

Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe
35 40 45

[0031]

Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr
50 55 60

Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn
65 70 75 80

Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg
85 90 95

Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile
100 105 110

Thr Ser Leu Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val
115 120 125

Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp
130 135 140

Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn
145 150 155 160

Arg Gly Glu Asn Ser Cys Lys Ala Thr Gly Gln Val Cys His Ala Leu
165 170 175

Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser
180 185 190

Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu

195 200 205

Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln
210 215 220

Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly
225 230 235 240

Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro
245 250 255

His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr
260 265 270

Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His
275 280 285

Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro
290 295 300

Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala
305 310 315 320

Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met
325 330 335

[0032]

<210> 69
<211> 744
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-40

<400> 69
caggcggccg aggtgcagct ggtgcagtct gggggaggcg tggtccagcc tgggggtcc 60

ctgagactct cctgtgcagc gtctggattc accttcagta gctatggcat gcactgggtc 120

cgccaggctc caggcaaggg gctggagtgg gtggcattta tacggtatga tggaagtaat 180

aaatactacg cagactccgt gaagggccga ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 240

acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gctgaggaca cggctgtgta ttactgtgcg 300

aaagaacccc ccgagtatta ctatgatagt agtggttatt cgtggggcca gggaaccctg 360

gtcaccgtct cctcaggagg tggcggatct ggtggaggcg gtagcggtgg tggcggatcc 420

gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 480

atcacttgcc aggcgagtca ggacattgac acctatttaa actggtatca gcagaaacca 540

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtctcatca 600

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag tctgcagcct 660

gaagattttg caacttattt ctgtcaacag acttacagtc ccccgatcac cttcggccaa 720

gggacacgac tggagattaa acga 744

<210> 70
<211> 248
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-40

<400> 70

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

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

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

Glu Trp Val Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala
50 55 60

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Lys Glu Pro Pro Glu Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly
100 105 110

Tyr Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

[0033] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Asp Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr
165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
245

<210> 71
<211> 729
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-49

<400> 71
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgt gagcgatgac 300

tacggtggta actccgggac tagctactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 360

ggaggtggcg gatctggtgg aggcggtagc ggtggtggcg gatccgacat ccagatgacc 420

cagtctccat cctccctgtc tgcatctgta ggagacagag tcaccatcac ttgccaggcg 480

agtcaggaca ttagcaacta tttaaattgg tatcagcaga agccagggaa agcccctaag 540

ctcctgatct acgatgcatc caatttggaa acaggggtcc catcaaggtt cagtggcagt 600

ggatctggga cagatttcac tctcaccatc agcagtctgc aacctgaaga ttttgcaact 660

tactactgtc aacagagtta cagtaccccc gtgacgttcg gcggagggac caagctgacc 720

gtcctaggt 729

<210> 72
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-49

<400> 72

[0034]

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Ser Asp Asp Tyr Gly Gly Asn Ser Gly Thr Ser Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala

145 150 155 160

Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly
180 185 190

Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
195 200 205

Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220

Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Val Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
225 230 235 240

Val Leu Gly

<210> 73
<211> 711
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-50

<400> 73
gaggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggt gtggtacggc ctgggggtc cctgagactc 60

[0035] tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acttatgaaa tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg gcttgcatac attggaggta gtggtagtcc catatactac 180

gcagactctg tgaggggccg attcaccatc tccagagaca acaccaagaa ttcactattt 240

ctccaaatga gcagcctgag agccgaggac accgctgttt actattgtgt ggaagggtgg 300

tttgacaagt ggggcctggg aaccctggtc accgtctcct caggaggtgg cggatctggt 360

ggaggcggta gcggtggtgg cggatccgac atccagttga cccagtctcc atccaccctg 420

tctgcatctg taggagacag agtcaccatc acttgccggg caagtcagag cattagcagc 480

tatttaaatt ggtatcagca gaaaccaggg aaagccccta agctcctgat ctacgatgca 540

tccaatttgg agacaggggt cccatcaagg ttcagtggaa gtggatctgg gacagatttc 600

actctcacca tcagcagtct gcaacctgaa gattttgcaa cttactactg tcaacagagt 660

tacagtaccc cgtacacttt tggccagggg accaagctgg aaatcaaacg t 711

<210> 74
<211> 237
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-50

<400> 74

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr

20 25 30

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

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

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

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

Val Glu Gly Trp Phe Asp Lys Trp Gly Leu Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val
130 135 140

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser
145 150 155 160

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
165 170 175

[0036]

Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
180 185 190

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
195 200 205

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro
210 215 220

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
225 230 235

<210> 75
<211> 732
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-4-12

<400> 75
caggtgcagc tggtgcagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttacgtta tacattgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagct atatcgcatg atggaagcaa taaatactac 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

cttcaaatga gcagtctgag cgctgaggac acggctatgt attactgtgt gaaaactagt 300

agtgattatt actacgccta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcaggaggt 360

ggcgggtctg gtggaggcgg tagcggtggt ggcggatccc agactgtggt gactcaggag 420

ccatcgttct cagtgtcccc tggagggaca gtcacactca cttgtggctt gagctctggc 480

tcagtctcta ctggcaactc ccccacctgg taccagcaga ccccaggcca ggctccacgc 540

acgctcatct acagcacaaa cactcgctct tctggggtcc ctgatcgctt ctctggctcc 600

atccttggga acaaagctgc cctcaccatc acgggggccc aggcagatga tgaatctgat 660

tattactgtg tgctgtatat gggtagtggc tattgggtgt tcggcggagg gaccaaggtc 720

accgtcctag gt 732

<210> 76
<211> 244
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物MTB-4-12

<400> 76

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

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

Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0037] Ala Ala Ile Ser His Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Val Lys Thr Ser Ser Asp Tyr Tyr Tyr Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser
130 135 140

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Ser Ser Gly
145 150 155 160

Ser Val Ser Thr Gly Asn Ser Pro Thr Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly
165 170 175

Gln Ala Pro Arg Thr Leu Ile Tyr Ser Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly
180 185 190

Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu
195 200 205

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

Leu Tyr Met Gly Ser Gly Tyr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
225 230 235 240

Thr Val Leu Gly

<210> 77
<211> 723
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物 MTB-4-45

<400> 77
gaggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cacctccacc agctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcttgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagatttg 300

ggtgatggcg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttcaggaggt 360

ggcgggtctg gtggaggcgg tagcggtggt ggcggatccg acatccagat gacccagtct 420

ctatcctccc tgtctgcatc tgtaggagac agagtcacca tcgcttgccg ggcaagtcag 480

[0038] accattagta ggtatttaaa ttggtatcag cagaaaccag ggaaagcccc taagctcctg 540

atctatgctg catccagttt gcaaagtggg gtctcatcaa ggttcagtgg cagtggatct 600

gggacagagt tcactctcac catcagcagt ctgcagcctg aagattttgc aacttatttc 660

tgtcaacaga cttacagtcc cccgatcacc ttcggccaag ggacacgact ggagattaaa 720

cga 723

<210> 78
<211> 241
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> BCMA ScFv结合物 MTB-4-45

<400> 78

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

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

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

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

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

Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Leu Ser Ser Leu
130 135 140

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ala Cys Arg Ala Ser Gln
145 150 155 160

Thr Ile Ser Arg Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
165 170 175

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Ser
180 185 190

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
195 200 205

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr
210 215 220

[0039]

Tyr Ser Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
225 230 235 240

Arg

<210> 79
<211> 36
<212> DNA
<213> 智人

<400> 79
gagagcaaat acgggccgcc atgtcccccg tgtccg 36

<210> 80
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<400> 80

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 81
<211> 327
<212> DNA
<213> 智人

<400> 81
gcaccaccag ttgctggccc tagtgtcttc ttgttccctc ccaagcccaa agacaccttg 60

atgatttcca gaactcctga ggttacctgc gttgtcgtag atgtttctca ggaggaccca 120

gaggtccaat ttaactggta cgttgatggg gtggaagttc acaatgcgaa gacaaagccg 180

cgggaagaac aatttcagtc cacttaccgg gttgtcagcg ttctgacggt attgcatcaa 240

gactggctta atggaaagga atataagtgt aaggtgtcca acaaaggttt gccgagcagt 300

attgagaaga ccatatcaaa ggcgaag 327

<210> 82
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
65 70 75 80

[0040] Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
85 90 95

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
100 105

<210> 83
<211> 321
<212> DNA
<213> 智人

<400> 83
gggcagccgc gcgagccaca agtttacact ttgccgccat ctcaagagga aatgactaaa 60

aaccaggtat ccttgacatg cctcgtaaaa ggattttatc catctgatat tgctgtggaa 120

tgggagtcta acgggcagcc ggaaaataat tacaaaacta caccacctgt gctcgattca 180

gatggaagtt tcttccttta cagtagactt acggtggaca aatctaggtg gcaggaaggg 240

aatgtgttta gttgtagtgt aatgcacgag gcacttcata accactatac acagaagtca 300

ctgagtttga gtcttggcaa a 321

<210> 84
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 84

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
100 105

<210> 85
<211> 684
<212> DNA
<213> 智人

<400> 85
gagagcaaat acgggccgcc atgtcccccg tgtccggcac caccagttgc tggccctagt 60

gtcttcttgt tccctcccaa gcccaaagac accttgatga tttccagaac tcctgaggtt 120

acctgcgttg tcgtagatgt ttctcaggag gacccagagg tccaatttaa ctggtacgtt 180

gatggggtgg aagttcacaa tgcgaagaca aagccgcggg aagaacaatt tcagtccact 240

[0041] taccgggttg tcagcgttct gacggtattg catcaagact ggcttaatgg aaaggaatat 300

aagtgtaagg tgtccaacaa aggtttgccg agcagtattg agaagaccat atcaaaggcg 360

aaggggcagc cgcgcgagcc acaagtttac actttgccgc catctcaaga ggaaatgact 420

aaaaaccagg tatccttgac atgcctcgta aaaggatttt atccatctga tattgctgtg 480

gaatgggagt ctaacgggca gccggaaaat aattacaaaa ctacaccacc tgtgctcgat 540

tcagatggaa gtttcttcct ttacagtaga cttacggtgg acaaatctag gtggcaggaa 600

gggaatgtgt ttagttgtag tgtaatgcac gaggcacttc ataaccacta tacacagaag 660

tcactgagtt tgagtcttgg caaa 684

<210> 86
<211> 228
<212> PRT
<213> 智人

<400> 86

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser Thr
65 70 75 80

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
130 135 140

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

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
165 170 175

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
195 200 205

[0042] Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
210 215 220

Ser Leu Gly Lys
225

<210> 87
<211> 1497
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> D0084 (Efla-BCMA序列5 CD8 BBz)

<400> 87
atgctgctgc tggtgaccag cctgcttctg tgtgaactgc cgcatccggc gtttctgctg 60

attccggagg tccagctggt gcagtctgga ggaggcgtgg tccagcctgg tgggtccctg 120

agactctcct gtgcagcgtc tggattcacc ttcagtagct atggcatgca ctgggtccgc 180

caggctccag gcaaggggct ggagtgggtg gcatttatac ggtatgatgg aagtaataaa 240

tactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaattc caagaacacg 300

ctgtatctgc aaatgaacag cctgagagct gaggacacgg ctgtgtatta ctgtgcgaga 360

gattgggccg gggattgtac taatggccaa tgcggcgtct actggggaca gggaaccctg 420

gtcaccgtct cctcaggagg tggcggatct ggtggaggcg gtagcggtgg tggcggatcc 480

gaaattgtgt tgacgcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 540

atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtaatg gatacaacta tttggattgg 600

tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctcctgatct atttgggttc taatcgggcc 660

tccggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 720

agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactccg 780

tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaacgtg cggccgcaac gaccactcct 840

gcaccccgcc ctccgactcc ggccccaacc attgccagcc agcccctgtc cctgcggccg 900

gaagcctgca gaccggctgc cggcggagcc gtccataccc ggggactgga tttcgcctgc 960

gatatctata tctgggcacc actcgccgga acctgtggag tgctgctgct gtcccttgtg 1020

atcaccctgt actgcaagcg cggacggaag aaactcttgt acatcttcaa gcagccgttc 1080

atgcgccctg tgcaaaccac ccaagaagag gacgggtgct cctgccggtt cccggaagag 1140

gaagagggcg gctgcgaact gcgcgtgaag ttttcccggt ccgccgacgc tccggcgtac 1200

cagcaggggc aaaaccagct gtacaacgaa cttaacctcg gtcgccggga agaatatgac 1260

gtgctggaca agcggcgggg aagagatccc gagatgggtg gaaagccgcg gcggaagaac 1320

cctcaggagg gcttgtacaa cgagctgcaa aaggacaaaa tggccgaagc ctactccgag 1380

attggcatga agggagagcg cagacgcggg aagggacacg atggactgta ccagggactg 1440

tcaaccgcga ctaaggacac ttacgacgcc ctgcacatgc aggccctgcc cccgcgc 1497

<210> 88
<211> 499
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> D0084（Ef1a-BCMA序列5 CD8 BBz）

[0043] <400> 88

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 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly
20 25 30

Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
35 40 45

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
65 70 75 80

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Trp Ala Gly Asp Cys Thr Asn
115 120 125

Gly Gln Cys Gly Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

145 150 155 160

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
165 170 175

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
180 185 190

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
195 200 205

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
210 215 220

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
225 230 235 240

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
245 250 255

Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
260 265 270

Arg Ala Ala Ala Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
275 280 285

Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
290 295 300

[0044]

Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
305 310 315 320

Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
325 330 335

Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
340 345 350

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
355 360 365

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
370 375 380

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
385 390 395 400

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
405 410 415

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
420 425 430

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
435 440 445

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys

450 455 460

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
465 470 475 480

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
485 490 495

Pro Pro Arg

<210> 89
<211> 1473
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> D0085（Ef1a-BCMA序列16 CD8 BBz）

<400> 89

[0045]

atgctgctgc tggtgaccag cctgcttctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttctgttg 60
attccggagg tccagctggt gcagtctggg ggaggcgtgg tccagcctgg ggggtccctg 120
agactctcct gtgcagcgtc tggattcacc ttcagtagct atggcatgca ctgggtccgc 180
caggctccag gcaaggggct ggagtgggtg gcatttatac ggtatgatgg aagtaataaa 240
tactacgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaattc caagaacacg 300
ctgtatctgc aaatgaacag cctgagagct gaggacacgg ctgtgtatta ctgtgcgaga 360
gaccttaatg actacggtga cccacccccc tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 420
tcctcaggag gtggcggatc tggtggaggc ggtagcggtg gtggcggatc cgacatccag 480
atgacccagt ctccatcctc cctgtctgca tctgtaggag acagagtcac catcacttgc 540
cgggcaagtc agagcattag cagctattta aattggtatc agcagaaacc agggaaagcc 600
cctaagctcc tgatctacga tgcatccaat ttggaaacag gggtctcatc aaggttcagt 660
ggcagtggat ctgggacaga gttcactctc accatcagca gtctgcagcc tgaagatttt 720
gcaacttatt tctgtcaaca gacttacagt cccccgatca ccttcggcca agggacacga 780
ctggagatta aacgagcggc cgcaacgacc actcctgcac cccgccctcc gactccggcc 840
ccaaccattg ccagccagcc cctgtccctg cggccggaag cctgcagacc ggctgccggc 900
ggagccgtcc atacccgggg actggatttc gcctgcgata tctatatctg ggcaccactc 960
gccggaacct gtggagtgct gctgctgtcc cttgtgatca ccctgtactg caagcgcgga 1020
cggaagaaac tcttgtacat cttcaagcag ccgttcatgc gccctgtgca aaccacccaa 1080
gaagaggacg ggtgctcctg ccggttcccg gaagaggaag agggcggctg cgaactgcgc 1140
gtgaagtttt cccggtccgc cgacgctccg gcgtaccagc aggggcaaaa ccagctgtac 1200
aacgaactta acctcggtcg ccgggaagaa tatgacgtgc tggacaagcg gcggggaaga 1260
gatcccgaga tgggtggaaa gccgcggcgg aagaaccctc aggagggctt gtacaacgag 1320
ctgcaaaagg acaaaatggc cgaagcctac tccgagattg gcatgaaggg agagcgcaga 1380
cgcgggaagg gacacgatgg actgtaccag ggactgtcaa ccgcgactaa ggacacttac 1440
gacgccctgc acatgcaggc cctgcccccg cgc 1473

<210> 90

<211> 491
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> D0085（Efla-BCMA序列16 CD8 BBz）

<400> 90

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 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly
20 25 30

Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
35 40 45

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
65 70 75 80

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100 105 110

[0046] Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Asn Asp Tyr Gly Asp Pro
115 120 125

Pro Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
145 150 155 160

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
165 170 175

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp
180 185 190

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala
195 200 205

Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
210 215 220

Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
225 230 235 240

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

Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Thr Thr Thr Pro
260 265 270

Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
275 280 285

Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
290 295 300

Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
305 310 315 320

Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
325 330 335

Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
340 345 350

Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
355 360 365

Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
370 375 380

Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
385 390 395 400

Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
405 410 415

[0047] Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
420 425 430

Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
435 440 445

Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
450 455 460

His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
465 470 475 480

Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 91
<211> 1476
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> D0086（Ef1a-BCMA序列37 CD8 BBz）（Ef1a-BCMA序列37 CD8 BBz）

<400> 91
atgctgctgc tggtgaccag cctgcttctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttctgttg 60

attccggagg tgcagctggt ggagtctggg ggaggcttgg tcaagcctgg agggtccctg 120

agactctcct gtgcagcgtc tggattcacc ttcagtagct atggcatgca ctgggtccgc 180

caggctccag gcaaggggct ggagtgggtg gcatttatac ggtatgatgg aagtaataaa 240

tactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaattc caagaacacg 300

ctgtatctgc aaatgaacag cctgagagct gaggacacgg ctgtgtatta ctgtgcgaaa 360

gattgggaat atagtggata cgatgcacac ccgggatggg gtcagggaac cctggtcacc 420

gtctcttcag gaggtggtgg gtctggtgga ggcggtagcg gtggtggcgg atccgacatc 480

cagttgaccc agtctccatc ctccctgtct gcatctgtag gagacagagt caccatcact 540

tgccgggcaa gtcagggcat tagcagtgct ttagcctggt atcagcagaa accagggaaa 600

gctcctaagc tcctgatcta tgatgcctcc agtttggaaa gtggggtccc atcaaggttc 660

agtggcagtg gatctgggac agagttcact ctcaccatca gcagtctgca gcctgaagat 720

tttgcaactt atttctgtca acagacttac agtcccccga tcaccttcgg ccaagggaca 780

cgactggaga ttaaacgagc ggccgcaacg accactcctg caccccgccc tccgactccg 840

gccccaacca ttgccagcca gcccctgtcc ctgcggccgg aagcctgcag accggctgcc 900

ggcggagccg tccatacccg gggactggat ttcgcctgcg atatctatat ctgggcacca 960

ctcgccggaa cctgtggagt gctgctgctg tcccttgtga tcaccctgta ctgcaagcgc 1020

ggacggaaga aactcttgta catcttcaag cagccgttca tgcgccctgt gcaaaccacc 1080

caagaagagg acgggtgctc ctgccggttc ccggaagagg aagagggcgg ctgcgaactg 1140

cgcgtgaagt tttcccggtc cgccgacgct ccggcgtacc agcaggggca aaaccagctg 1200

tacaacgaac ttaacctcgg tcgccgggaa gaatatgacg tgctggacaa gcggcgggga 1260

agagatcccg agatgggtgg aaagccgcgg cggaagaacc ctcaggaggg cttgtacaac 1320

gagctgcaaa aggacaaaat ggccgaagcc tactccgaga ttggcatgaa gggagagcgc 1380

[0048] agacgcggga agggacacga tggactgtac cagggactgt caaccgcgac taaggacact 1440

tacgacgccc tgcacatgca ggccctgccc ccgcgc 1476

<210> 92
<211> 492
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> D0086（Ef1a-BCMA序列37 CD8 BBz）（Ef1a-BCMA序列37 CD8 BBz）

<400> 92

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 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
20 25 30

Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
35 40 45

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
65 70 75 80

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Trp Glu Tyr Ser Gly Tyr Asp
115 120 125

Ala His Pro Gly Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
145 150 155 160

Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
165 170 175

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
180 185 190

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp
195 200 205

Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
210 215 220

Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
225 230 235 240

[0049]

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

Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Thr Thr Thr
260 265 270

Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
275 280 285

Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
290 295 300

His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
305 310 315 320

Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
325 330 335

Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
340 345 350

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
355 360 365

Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
370 375 380

Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
385 390 395 400

Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
405 410 415

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
420 425 430

Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
435 440 445

Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
450 455 460

Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
465 470 475 480

Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 93
<211> 1479
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> D0087_LTG2092 (Ef1a-BCMA序列40 CD8 BBz)

<400> 93

[0050]

atgctgctgc tggtgaccag cctgcttctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttcttctg 60
attccggagg tgcagctggt gcagtctggg ggaggcgtgg tccagcctgg ggggtccctg 120
agactctcct gtgcagcgtc tggattcacc ttcagtagct atggcatgca ctgggtccgc 180
caggctccag gcaaggggct ggagtgggtg gcatttatac ggtatgatgg aagtaataaa 240
tactacgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaattc caagaacacg 300
ctgtatctgc aaatgaacag cctgagagct gaggacacgg ctgtgtatta ctgtgcgaaa 360
gaaccccccg agtattacta tgatagtagt ggttattcgt ggggccaggg aaccctggtc 420
accgtctcct caggaggtgg cgggtctggt ggaggcggta gcggtggtgg cggatccgac 480
atccagttga cccagtctcc atcctccctg tctgcatctg taggagacag agtcaccatc 540
acttgccagg cgagtcagga cattgacacc tatttaaact ggtatcagca gaaaccaggg 600
aaagccccta agctcctgat ctatgctgca tccagtttgc aaagtggggt ctcatcaagg 660
ttcagtggca gtggatctgg gacagagttc actctcacca tcagcagtct gcagcctgaa 720
gattttgcaa cttatttctg tcaacagact tacagtcccc cgatcacctt cggccaaggg 780
acacgactgg agattaaacg agcggccgca acgaccactc ctgcaccccg ccctccgact 840
ccggccccaa ccattgccag ccagcccctg tccctgcggc cggaagcctg cagaccggct 900
gccggcggag ccgtccatac ccggggactg gatttcgcct gcgatatcta tatctgggca 960
ccactcgccg gaacctgtgg agtgctgctg ctgtcccttg tgatcaccct gtactgcaag 1020
cgcggacgga agaaactctt gtacatcttc aagcagccgt tcatgcgccc tgtgcaaacc 1080
acccaagaag aggacgggtg ctcctgccgg ttcccggaag aggaagaggg cggctgcgaa 1140
ctgcgcgtga agttttcccg gtccgccgac gctccggcgt accagcaggg gcaaaaccag 1200
ctgtacaacg aacttaacct cggtcgccgg gaagaatatg acgtgctgga caagcggcgg 1260

ggaagagatc ccgagatggg tggaaagccg cggcggaaga accctcagga gggcttgtac 1320

aacgagctgc aaaaggacaa aatggccgaa gcctactccg agattggcat gaagggagag 1380

cgcagacgcg ggaagggaca cgatggactg taccagggac tgtcaaccgc gactaaggac 1440

acttacgacg ccctgcacat gcaggccctg cccccgcgc 1479

<210> 94
<211> 493
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> D0087_LTG2092 (Ef1a-BCMA序列40 CD8 BBz)

<400> 94

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 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly
20 25 30

Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
35 40 45

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
65 70 75 80

[0051]

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Glu Pro Pro Glu Tyr Tyr Tyr Asp
115 120 125

Ser Ser Gly Tyr Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
145 150 155 160

Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp
165 170 175

Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Asp Thr Tyr Leu
180 185 190

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
195 200 205

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Ser
210 215 220

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu

225 230 235 240

Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Pro Pro Ile Thr
245 250 255

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Thr Thr
260 265 270

Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
275 280 285

Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
290 295 300

Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
305 310 315 320

Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
325 330 335

Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
340 345 350

Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
355 360 365

Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
370 375 380

[0052]

Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
385 390 395 400

Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
405 410 415

Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
420 425 430

Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
435 440 445

Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
450 455 460

Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
465 470 475 480

Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 95
<211> 1476
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> D0099_LTG2944 (Ef1a-BCMA序列4-12 CD8 BBz)

<400> 95

[0053]

atgctgctgc tggtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttctgctg 60

attccgcagg tgcagctggt gcagtctggg ggaggcgtgg tccagcctgg ggggtccctg 120

agactctcct gtgcagcctc tggattcacc ttcagtagtt acgttataca ttgggtccgc 180

caggctccag gcaaggggct ggagtgggtg gcagctatat cgcatgatgg aagcaataaa 240

tactacgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaattc caagaacacg 300

ctgtatcttc aaatgagcag tctgagcgct gaggacacgg ctatgtatta ctgtgtgaaa 360

actagtagtg attattacta cgcctactgg ggccagggaa ccctggtcac cgtctcctca 420

ggaggtggcg ggtctggtgg aggcggtagc ggtggtggcg gatcccagac tgtggtgact 480

caggagccat cgttctcagt gtcccctgga gggacagtca cactcacttg tggcttgagc 540

tctggctcag tctctactgg caactccccc acctggtacc agcagacccc aggccaggct 600

ccacgcacgc tcatctacag cacaaacact cgctcttctg gggtccctga tcgcttctct 660

ggctccatcc ttgggaacaa agctgccctc accatcacgg gggcccaggc agatgatgaa 720

tctgattatt actgtgtgct gtatatgggt agtggctatt gggtgttcgg cggagggacc 780

aaggtcaccg tcctaggtgc ggccgcaacg accactcctg caccccgccc tccgactccg 840

gccccaacca ttgccagcca gcccctgtcc ctgcggccgg aagcctgcag accggctgcc 900

ggcggagccg tccatacccg gggactggat ttcgcctgcg atatctatat ctgggcacca 960

ctcgccggaa cctgtggagt gctgctgctg tcccttgtga tcaccctgta ctgcaagcgc 1020

ggacggaaga aactcttgta catcttcaag cagccgttca tgcgccctgt gcaaaccacc 1080

caagaagagg acgggtgctc ctgccggttc ccggaagagg aagagggcgg ctgcgaactg 1140

cgcgtgaagt tttcccggtc cgccgacgct ccggcgtacc agcaggggca aaaccagctg 1200

tacaacgaac ttaacctcgg tcgccgggaa gaatatgacg tgctggacaa gcggcgggga 1260

agagatcccg agatgggtgg aaagccgcgg cggaagaacc ctcaggaggg cttgtacaac 1320

gagctgcaaa aggacaaaat ggccgaagcc tactccgaga ttggcatgaa gggagagcgc 1380

agacgcggga agggacacga tggactgtac cagggactgt caaccgcgac taaggacact 1440

tacgacgccc tgcacatgca ggccctgccc ccgcgc 1476

<210> 96
<211> 492
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> D0099_LTG2944（Efla-BCMA序列4-12 CD8 BBz）

<400> 96

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 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly
20 25 30

Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
35 40 45

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Val Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ala Ile Ser His Asp Gly Ser Asn Lys
65 70 75 80

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Ser Ala Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Lys Thr Ser Ser Asp Tyr Tyr Tyr Ala
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr
145 150 155 160

Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
165 170 175

Cys Gly Leu Ser Ser Gly Ser Val Ser Thr Gly Asn Ser Pro Thr Trp
180 185 190

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

[0054] Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Ile Leu
210 215 220

Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Asp Asp Glu
225 230 235 240

Ser Asp Tyr Tyr Cys Val Leu Tyr Met Gly Ser Gly Tyr Trp Val Phe
245 250 255

Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Ala Ala Ala Thr Thr Thr
260 265 270

Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
275 280 285

Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
290 295 300

His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
305 310 315 320

Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
325 330 335

Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
340 345 350

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
355 360 365

Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
370 375 380

Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
385 390 395 400

Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
405 410 415

Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
420 425 430

Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
435 440 445

Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
450 455 460

Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
465 470 475 480

Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490

<210> 97
<211> 1467
<212> DNA
<213> 人工的

[0055]

<220>
<223> D0100_LTG2945（Ef1a-BCMA序列4-45 CD8 BBz）

<400> 97
atgctgctgc tggtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttctgctg 60

attccggagg tgcagctggt gcagtctggg gctgaggtga agaagcctgg ggcctcagtg 120

aaggtttcct gcaaggcatc tggatacacc tccaccagct actatatgca ctgggtgcga 180

caggcccctg gacaagggct tgagtggatg ggaataatca accctagtgg tggtagcaca 240

agctacgcac agaagttcca gggcagagtc accatgacca gggacacgtc cacgagcaca 300

gtctacatgg agctgagcag cttgagatct gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga 360

gatttgggtg atggcgcttt tgatatctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcttca 420

ggaggtggcg ggtctggtgg aggcggtagc ggtggtggcg gatccgacat ccagatgacc 480

cagtctctat cctccctgtc tgcatctgta ggagacagag tcaccatcgc ttgccgggca 540

agtcagacca ttagtaggta tttaaattgg tatcagcaga aaccagggaa agcccctaag 600

ctcctgatct atgctgcatc cagtttgcaa agtggggtct catcaaggtt cagtggcagt 660

ggatctggga cagagttcac tctcaccatc agcagtctgc agcctgaaga ttttgcaact 720

tatttctgtc aacagactta cagtcccccg atcaccttcg gccaagggac acgactggag 780

attaaacgag cggccgcaac gaccactcct gcaccccgcc ctccgactcc ggccccaacc 840

attgccagcc agcccctgtc cctgcggccg gaagcctgca gaccggctgc cggcggagcc 900

gtccataccc ggggactgga tttcgcctgc gatatctata tctgggcacc actcgccgga 960

acctgtggag tgctgctgct gtcccttgtg atcaccctgt actgcaagcg cggacggaag 1020

aaactcttgt acatcttcaa gcagccgttc atgcgccctg tgcaaaccac ccaagaagag 1080

gacgggtgct cctgccggtt cccggaagag gaagagggcg gctgcgaact gcgcgtgaag 1140

ttttcccggt ccgccgacgc tccggcgtac cagcaggggc aaaaccagct gtacaacgaa 1200

cttaacctcg gtcgccggga agaatatgac gtgctggaca agcggcgggg aagagatccc 1260

gagatgggtg gaaagccgcg gcggaagaac cctcaggagg gcttgtacaa cgagctgcaa 1320

aaggacaaaa tggccgaagc ctactccgag attggcatga agggagagcg cagacgcggg 1380

aagggacacg atggactgta ccagggactg tcaaccgcga ctaaggacac ttacgacgcc 1440

ctgcacatgc aggccctgcc cccgcgc 1467

<210> 98
<211> 489
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> D0100_LTG2945 (Ef1a-BCMA序列4-45 CD8 BBz)

<400> 98

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 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
20 25 30

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
35 40 45

[0056]

Tyr Thr Ser Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
65 70 75 80

Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr
85 90 95

Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Gly Asp Gly Ala Phe Asp
115 120 125

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
145 150 155 160

Gln Ser Leu Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
165 170 175

Ala Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Arg Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln
180 185 190

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

195 200 205

Leu Gln Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
210 215 220

Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
225 230 235 240

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

Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Thr Thr Thr Pro Ala Pro
260 265 270

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
275 280 285

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
290 295 300

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305 310 315 320

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
325 330 335

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
340 345 350

[0057]

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
355 360 365

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
370 375 380

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
420 425 430

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
435 440 445

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485

<210> 99

<211> 1485
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> D0153 (BCMA 4-1c CD8 BBz)

<400> 99
atgctgctgc tggtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttctgctg 60

attccggagg tgcagctggt ggagaccggg ggaggcgtgg tccagcctgg ggggtccctg 120

agactctcct gtgcagcgtc tggattcacc ttcagtagct atggcatgca ctgggtccgc 180

caggctccag gcaaggggct ggagtgggtg gcatttatac ggtatgatgg aagtaataaa 240

tactacgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaattc caagaacacg 300

ctgtatctgc aaatgaacag cctgagagct gaggacacgg ctgtgtatta ctgtgcgaaa 360

gattgggata cgtattacta tgatagtagt ggttatgatc gggcctgggg ccagggaacc 420

ctggtcaccg tctcctcagg aggtggcggg tctggtggag gcggtagcgg tggtggcgga 480

tccgacatcc agatgaccca gtctccctcc tccctgtctg catctgtagg agacagagtc 540

accatcactt gccaggcgag tcaggacatt aacaactatt taaattggta tcagcagaaa 600

ccagggaaag cccctaagct cctgatctat gctgcatcca gtttgcaaag tggggtctca 660

tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gagttcactc tcaccatcag cagtctgcag 720

cctgaagatt ttgcaactta tttctgtcaa cagacttaca gtcccccgat caccttcggc 780

caagggacac gactggagat taaacgagcg gccgcaacga ccactcctgc accccgccct 840

ccgactccgg ccccaaccat tgccagccag cccctgtccc tgcggccgga agcctgcaga 900

[0058]

ccggctgccg gcggagccgt ccatacccgg ggactggatt tcgcctgcga tatctatatc 960

tgggcaccac tcgccggaac ctgtggagtg ctgctgctgt cccttgtgat caccctgtac 1020

tgcaagcgcg gacggaagaa actcttgtac atcttcaagc agccgttcat gcgccctgtg 1080

caaaccaccc aagaagagga cgggtgctcc tgccggttcc cggaagagga agagggcggc 1140

tgcgaactgc gcgtgaagtt ttcccggtcc gccgacgctc cggcgtacca gcaggggcaa 1200

aaccagctgt acaacgaact taacctcggt cgccgggaag aatatgacgt gctggacaag 1260

cggcggggaa gagatcccga gatgggtgga aagccgcggc ggaagaaccc tcaggagggc 1320

ttgtacaacg agctgcaaaa ggacaaaatg gccgaagcct actccgagat tggcatgaag 1380

ggagagcgca gacgcgggaa gggacacgat ggactgtacc agggactgtc aaccgcgact 1440

aaggacactt acgacgccct gcacatgcag gccctgcccc cgcgc 1485

<210> 100
<211> 495
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> D0153 (BCMA 4-1c CD8 BBz)

<400> 100

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 Glu Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly
20 25 30

Val Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
35 40 45

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
65 70 75 80

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Trp Asp Thr Tyr Tyr Tyr Asp
115 120 125

Ser Ser Gly Tyr Asp Arg Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
130 135 140

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
165 170 175

[0059] Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Asn Asn
180 185 190

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
195 200 205

Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser
210 215 220

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
225 230 235 240

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Tyr Ser Pro Pro
245 250 255

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala
260 265 270

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
275 280 285

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
290 295 300

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
305 310 315 320

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
325 330 335

Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
340 345 350

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
355 360 365

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
370 375 380

Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
385 390 395 400

Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
405 410 415

Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
420 425 430

Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
435 440 445

Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
450 455 460

Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
465 470 475 480

[0060] Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490 495

<210> 101
<211> 2142
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> D158 (BCMA 4-45 CD8 BBz 2A TGFBRIIdn)

<400> 101
atgctgctgc tggtgaccag cctgctgctg tgcgaactgc cgcatccggc gtttctgctg 60

attccggagg tgcagctggt gcagtctggg gctgaggtga agaagcctgg ggcctcagtg 120

aaggtttcct gcaaggcatc tggatacacc tccaccagct actatatgca ctgggtgcga 180

caggcccctg gacaagggct tgagtggatg ggaataatca accctagtgg tggtagcaca 240

agctacgcac agaagttcca gggcagagtc accatgacca gggacacgtc cacgagcaca 300

gtctacatgg agctgagcag cttgagatct gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcgaga 360

gatttgggtg atggcgcttt tgatatctgg ggccaaggga caatggtcac cgtctcttca 420

ggaggtggcg ggtctggtgg aggcggtagc ggtggtggcg gatccgacat ccagatgacc 480

cagtctctat cctccctgtc tgcatctgta ggagacagag tcaccatcgc ttgccgggca 540

agtcagacca ttagtaggta tttaaattgg tatcagcaga aaccagggaa agcccctaag 600

ctcctgatct atgctgcatc cagtttgcaa agtggggtct catcaaggtt cagtggcagt 660

ggatctggga cagagttcac tctcaccatc agcagtctgc agcctgaaga ttttgcaact 720

tatttctgtc aacagactta cagtcccccg atcaccttcg gccaagggac acgactggag 780

attaaacgag cggccgctac cacaacccct gcgccccggc ctcctacccc cgcacccacg 840

attgcttctc aacctctttc actccgacct gaggcttgta gacctgcagc cgggggtgcc 900

gtccacacac ggggactcga cttcgcttgt gatatatata tttgggcgcc cctggccggc 960

acttgtggag ttcttttgct ctctcttgtt atcacattgt actgcaagcg aggtaggaag 1020

aaattgcttt acatttttaa gcagccgttc atgcgaccag tacagactac tcaagaagaa 1080

gatgggtgct cttgtcggtt cccggaagaa gaagagggtg gttgcgagtt gagggtgaag 1140

ttctcccgct ctgccgacgc accggcatat cagcagggac aaaaccagct ctacaacgaa 1200

ttgaacctgg gtcggcggga agaatatgac gtgctcgata agcggcgggg tcgcgaccca 1260

gaaatgggag gcaaaccgcg caggaaaaat ccacaggagg gactttataa cgaacttcaa 1320

aaggataaga tggcagaggc atacagcgaa atcgggatga aaggcgagag aagaaggggg 1380

aaagggcacg atggtcttta ccaggggctt tctaccgcga cgaaggatac ctacgatgct 1440

ctccatatgc aagcacttcc tcctagacgg gcaaagcggg gctcaggggc gactaacttt 1500

tcactgttga agcaggccgg ggatgtggag gagaatcctg gtcctagagc taagcgagta 1560

gacatgggaa gagggctgct ccgaggcttg tggccgttgc atattgtatt gtggacgcgg 1620

atagcgagta caatcccgcc tcacgtgcaa aaatcagtta ataacgacat gatcgttact 1680

gacaacaatg gcgcagttaa atttccgcag ctttgtaaat tctgtgatgt aagattttca 1740

acgtgcgata accagaaaag ctgtatgtcc aactgcagca tcacatcaat ctgtgaaaaa 1800

ccccaagagg tatgtgtggc cgtctggcga aagaatgacg aaaatatcac actggagacc 1860

[0061] gtttgtcacg atcctaaact cccttatcat gactttattc tggaagacgc agcgtcaccg 1920

aagtgtataa tgaaagagaa gaagaagcct ggagagacgt ttttcatgtg cagttgctcc 1980

tcagatgagt gtaatgacaa catcattttt tccgaggagt acaatacgag taacccagac 2040

ctcctgctgg ttattttcca ggtaaccggc atcagtttgt tgcccccact gggtgttgca 2100

atcagtgtaa taatcatatt ttattgttac cgggtgtgat aa 2142

<210> 102
<211> 712
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> D158 (BCMA 4-45 CD8 BBz 2A TGFBRIIdn)

<400> 102

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 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
20 25 30

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
35 40 45

Tyr Thr Ser Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
65 70 75 80

Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr
85 90 95

Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Gly Asp Gly Ala Phe Asp
115 120 125

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
145 150 155 160

Gln Ser Leu Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
165 170 175

Ala Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Arg Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln
180 185 190

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser
195 200 205

Leu Gln Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
210 215 220

[0062] Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
225 230 235 240

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

Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Ala Ala Ala Thr Thr Thr Pro Ala Pro
260 265 270

Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
275 280 285

Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
290 295 300

Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305 310 315 320

Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
325 330 335

Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
340 345 350

Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
355 360 365

Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
370 375 380

Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385 390 395 400

Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
405 410 415

Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
420 425 430

Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
435 440 445

Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
450 455 460

Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465 470 475 480

Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly
485 490 495

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
500 505 510

Pro Gly Pro Arg Ala Lys Arg Val Asp Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg
515 520 525

[0063] Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr
530 535 540

Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn Asn Asp Met Ile Val Thr
545 550 555 560

Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp
565 570 575

Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys
580 585 590

Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln Glu Val Cys Val Ala Val
595 600 605

Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu Thr Val Cys His Asp
610 615 620

Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro
625 630 635 640

Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met
645 650 655

Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu
660 665 670

Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu Leu Leu Val Ile Phe Gln Val
675 680 685

Thr Gly Ile Ser Leu Leu Pro Pro Leu Gly Val Ala Ile Ser Val Ile
690 695 700

Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val
705 710

<210> 103
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 结合物4-1c VH

<400> 103
gaggtgcagc tggtggagac cgggggaggc gtggtccagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atacggtatg atggaagtaa taaatactac 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagattgg 300

gatacgtatt actatgatag tagtggttat gatcgggcct ggggccaggg aaccctggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 104
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工的

[0064] <220>
<223> 结合物4-1c VH

<400> 104

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Trp Asp Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Tyr Asp Arg
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 105

<211> 326
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 结合物4-1c VL

<400> 105
gacatccaga tgacccagtc tccctcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc aggcgagtca ggacattaac aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtctcatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag tctgcagcct 240

gaagattttg caacttattt ctgtcaacag acttacagtc ccccgatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa acgagc 326

<210> 106
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 结合物4-1c VL

<400> 106

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

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

[0065]

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

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

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

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

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

<210> 107
<211> 90
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> 弗林蛋白酶P2A弗林蛋白酶

<400> 107
cgggcaaagc ggggctcagg ggcgactaac ttttcactgt tgaagcaggc cggggatgtg 60

gaggagaatc ctggtcctag agctaagcga 90

<210> 108
<211> 30
<212> PRT

<213> 人工的

<220>
<223> 弗林蛋白酶P2A弗林蛋白酶

<400> 108

Arg Ala Lys Arg Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg Ala Lys Arg
20 25 30

<210> 109
<211> 573
<212> DNA
<213> 人工的

<220>
<223> TGFBRIIdn

<400> 109
atgggaagag ggctgctccg aggcttgtgg ccgttgcata ttgtattgtg gacgcggata 60

gcgagtacaa tcccgcctca cgtgcaaaaa tcagttaata acgacatgat cgttactgac 120

aacaatggcg cagttaaatt tccgcagctt tgtaaattct gtgatgtaag attttcaacg 180

tgcgataacc agaaaagctg tatgtccaac tgcagcatca catcaatctg tgaaaaaccc 240

caagaggtat gtgtggccgt ctggcgaaag aatgacgaaa atatcacact ggagaccgtt 300

tgtcacgatc ctaaactccc ttatcatgac tttattctgg aagacgcagc gtcaccgaag 360

tgtataatga aagagaagaa gaagcctgga gagacgtttt tcatgtgcag ttgctcctca 420

[0066] gatgagtgta atgacaacat cattttttcc gaggagtaca atacgagtaa cccagacctc 480

ctgctggtta ttttccaggt aaccggcatc agtttgttgc ccccactggg tgttgcaatc 540

agtgtaataa tcatatttta ttgttaccgg gtg 573

<210> 110
<211> 191
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> TGFBRIIdn

<400> 110

Met Gly Arg Gly Leu Leu Arg Gly Leu Trp Pro Leu His Ile Val Leu
1 5 10 15

Trp Thr Arg Ile Ala Ser Thr Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val
20 25 30

Asn Asn Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro
35 40 45

Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln
50 55 60

Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro
65 70 75 80

Gln Glu Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr

85 90 95

Leu Glu Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile
100 105 110

Leu Glu Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys
115 120 125

[0067]

Pro Gly Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn
130 135 140

Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp Leu
145 150 155 160

Leu Leu Val Ile Phe Gln Val Thr Gly Ile Ser Leu Leu Pro Pro Leu
165 170 175

Gly Val Ala Ile Ser Val Ile Ile Ile Phe Tyr Cys Tyr Arg Val
180 185 190

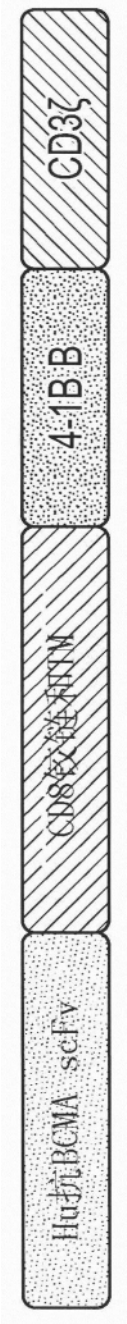

图1

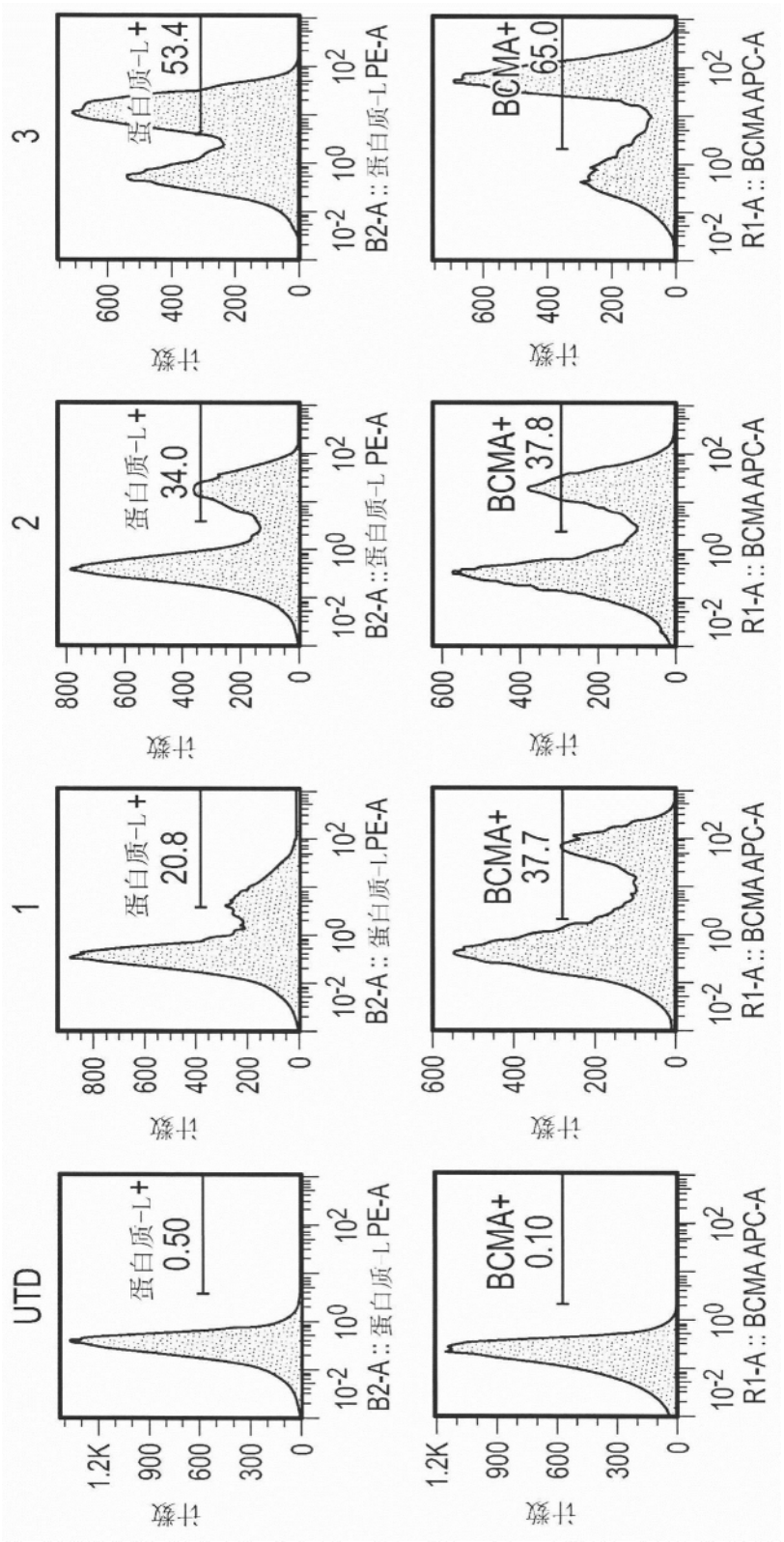
UTD
1
2
3
蛋白质-L+
0.50
蛋白质-L+
20.8
蛋白质-L+
34.0
蛋白质-L+
53.4
BCMA+
0.10
BCMA+
37.7
BCMA+
37.8
BCMA+
65.0
计数
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
R1-A :: BCMA APC-A

图2

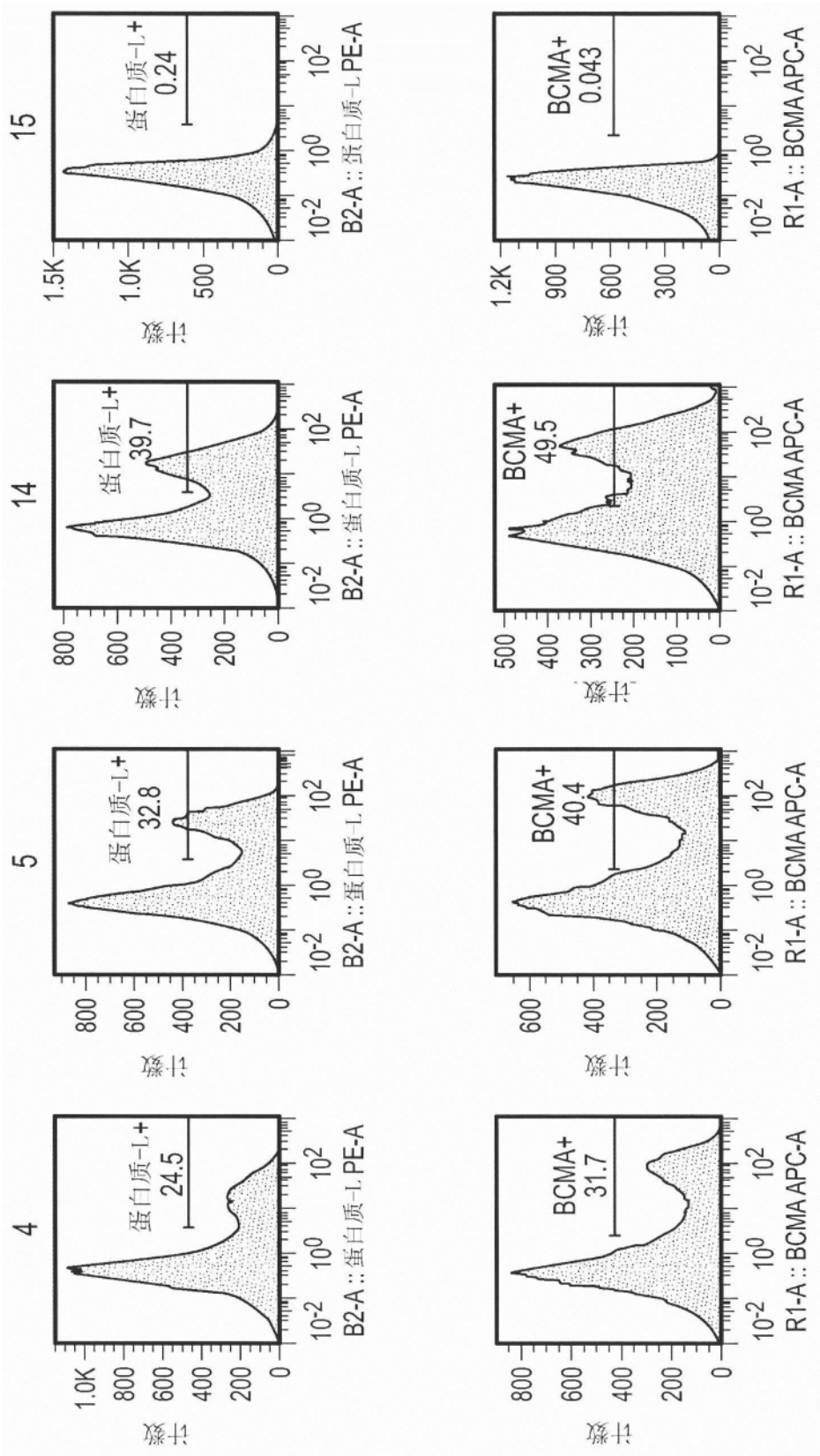
4
蛋白质-L+
24.5
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
5
蛋白质-L+
32.8
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
14
蛋白质-L+
39.7
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
15
蛋白质-L+
0.24
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
BCMA+
31.7
R1-A :: BCMA APC-A
BCMA+
40.4
R1-A :: BCMA APC-A
BCMA+
49.5
R1-A :: BCMA APC-A
BCMA+
0.043
R1-A :: BCMA APC-A
计数

图2(续)

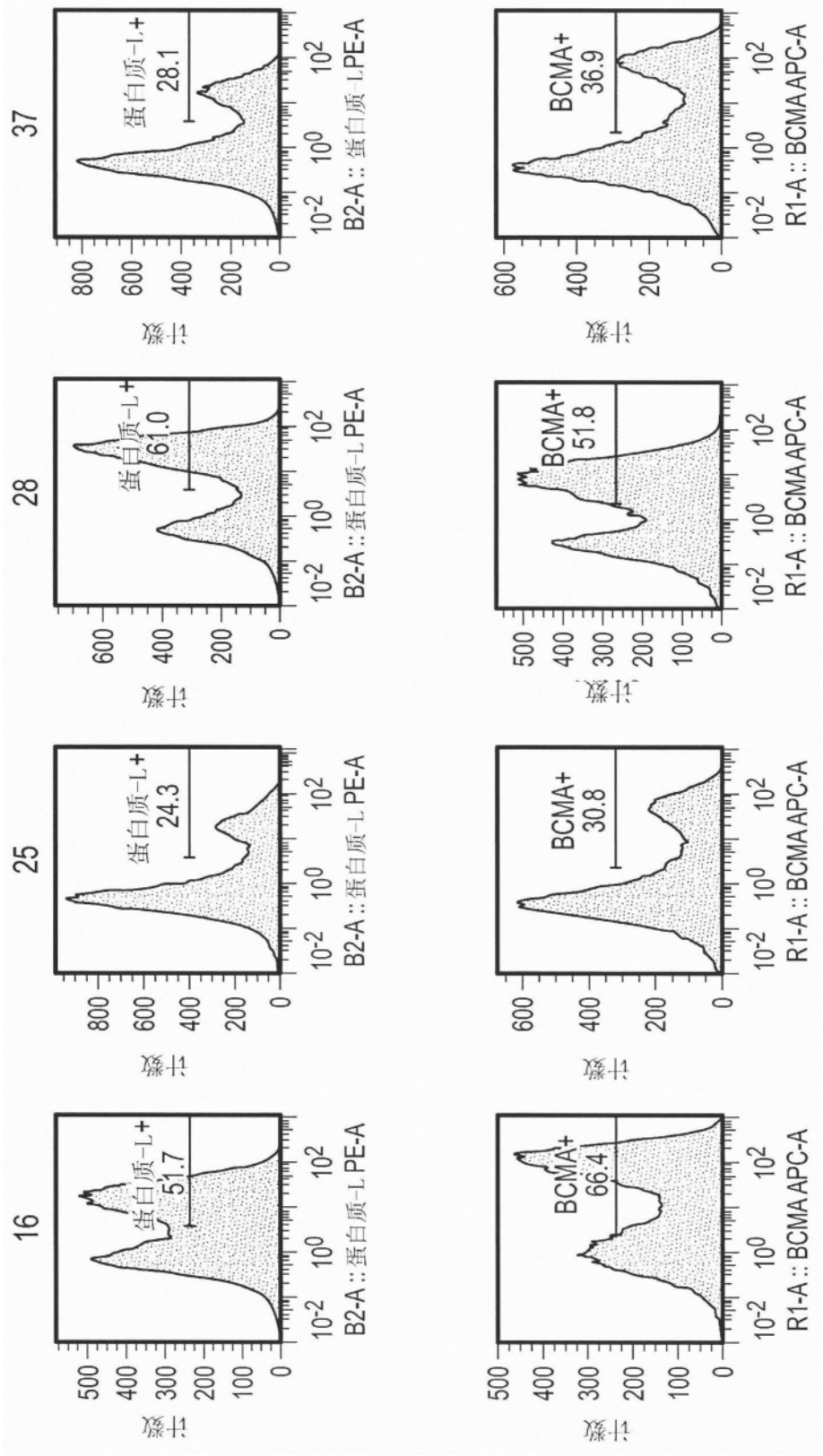
16
蛋白质-L+
51.7
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
计数
BCMA+
66.4
R1-A :: BCMA APC-A
计数
25
蛋白质-L+
24.3
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
计数
BCMA+
30.8
R1-A :: BCMA APC-A
计数
28
蛋白质-L+
61.0
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
计数
BCMA+
51.8
R1-A :: BCMA APC-A
计数
37
蛋白质-L+
28.1
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
计数
BCMA+
36.9
R1-A :: BCMA APC-A
计数

图2(续)

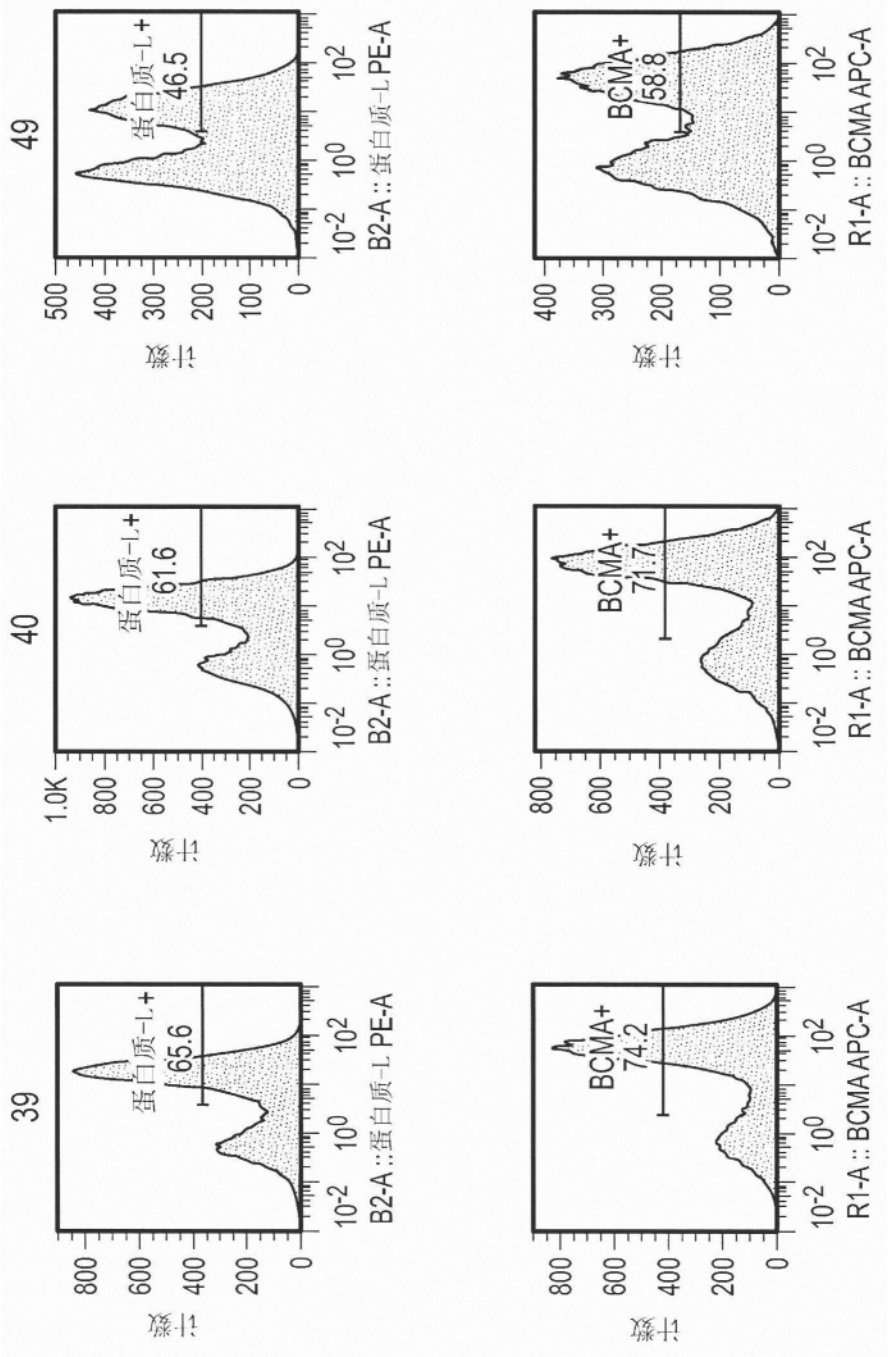
49
蛋白质-L+
46.5
计数
B2-A :: 蛋白质-L PE-A
BCMA+
58.8
R1-A :: BCMA APC-A
40
蛋白质-L+
61.6
BCMA+
71.7
39
蛋白质-L+
65.6
BCMA+
74.2

图2(续)

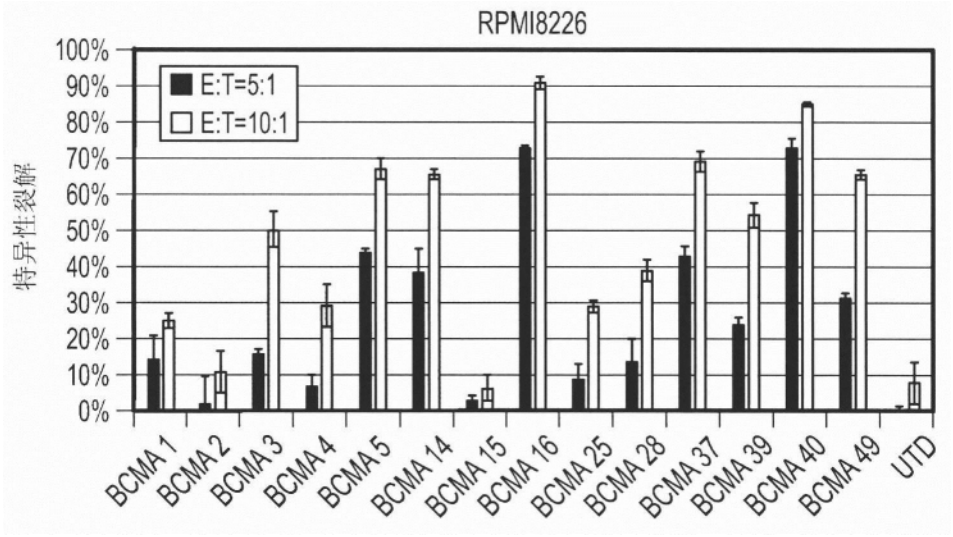
RPMI8226
特异性裂解
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
E:T=5:1
E:T=10:1
BCMA 1
BCMA 2
BCMA 3
BCMA 4
BCMA 5
BCMA 14
BCMA 15
BCMA 16
BCMA 25
BCMA 28
BCMA 37
BCMA 39
BCMA 40
BCMA 49
UTD

图3A

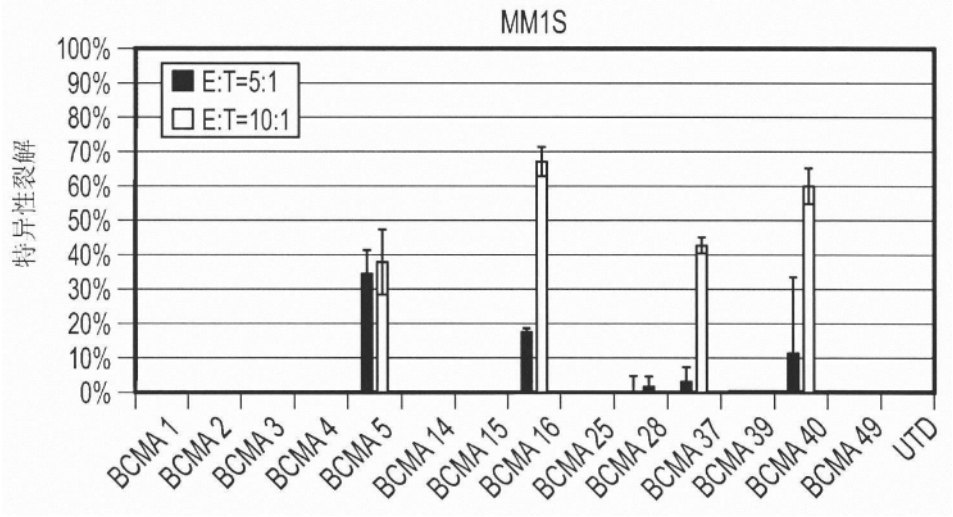
MM1S
特异性裂解
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
E:T=5:1
E:T=10:1
BCMA 1
BCMA 2
BCMA 3
BCMA 4
BCMA 5
BCMA 14
BCMA 15
BCMA 16
BCMA 25
BCMA 28
BCMA 37
BCMA 39
BCMA 40
BCMA 49
UTD

图3B

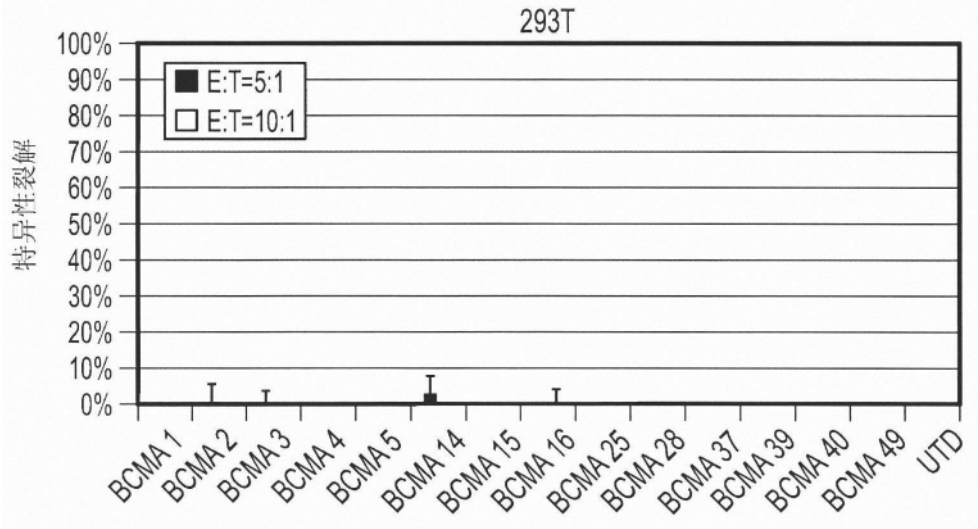
293T
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
特异性裂解
E:T=5:1
E:T=10:1
BCMA 1
BCMA 2
BCMA 3
BCMA 4
BCMA 5
BCMA 14
BCMA 15
BCMA 16
BCMA 25
BCMA 28
BCMA 37
BCMA 39
BCMA 40
BCMA 49
UTD

图3C

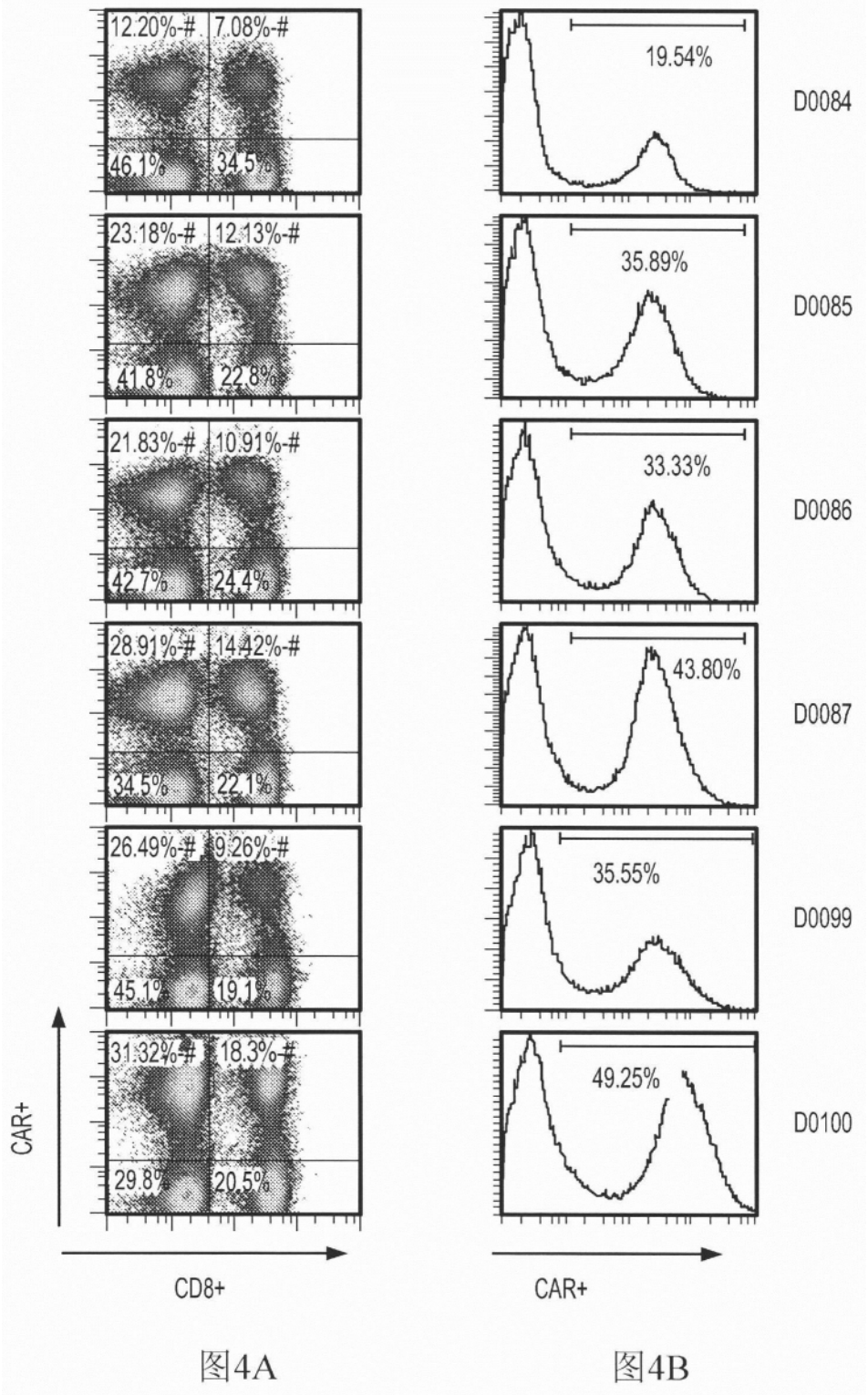
12.20%-#
7.08%-#
46.1%
34.5%
23.18%-#
12.13%-#
41.8%
22.8%
21.83%-#
10.91%-#
42.7%
24.4%
28.91%-#
14.42%-#
34.5%
22.1%
26.49%-#
9.26%-#
45.1%
19.1%
31.32%-#
18.3%-#
29.8%
20.5%
CAR+
CD8+
19.54%
35.89%
33.33%
43.80%
35.55%
49.25%
CAR+
D0084
D0085
D0086
D0087
D0099
D0100

图4A 图4B

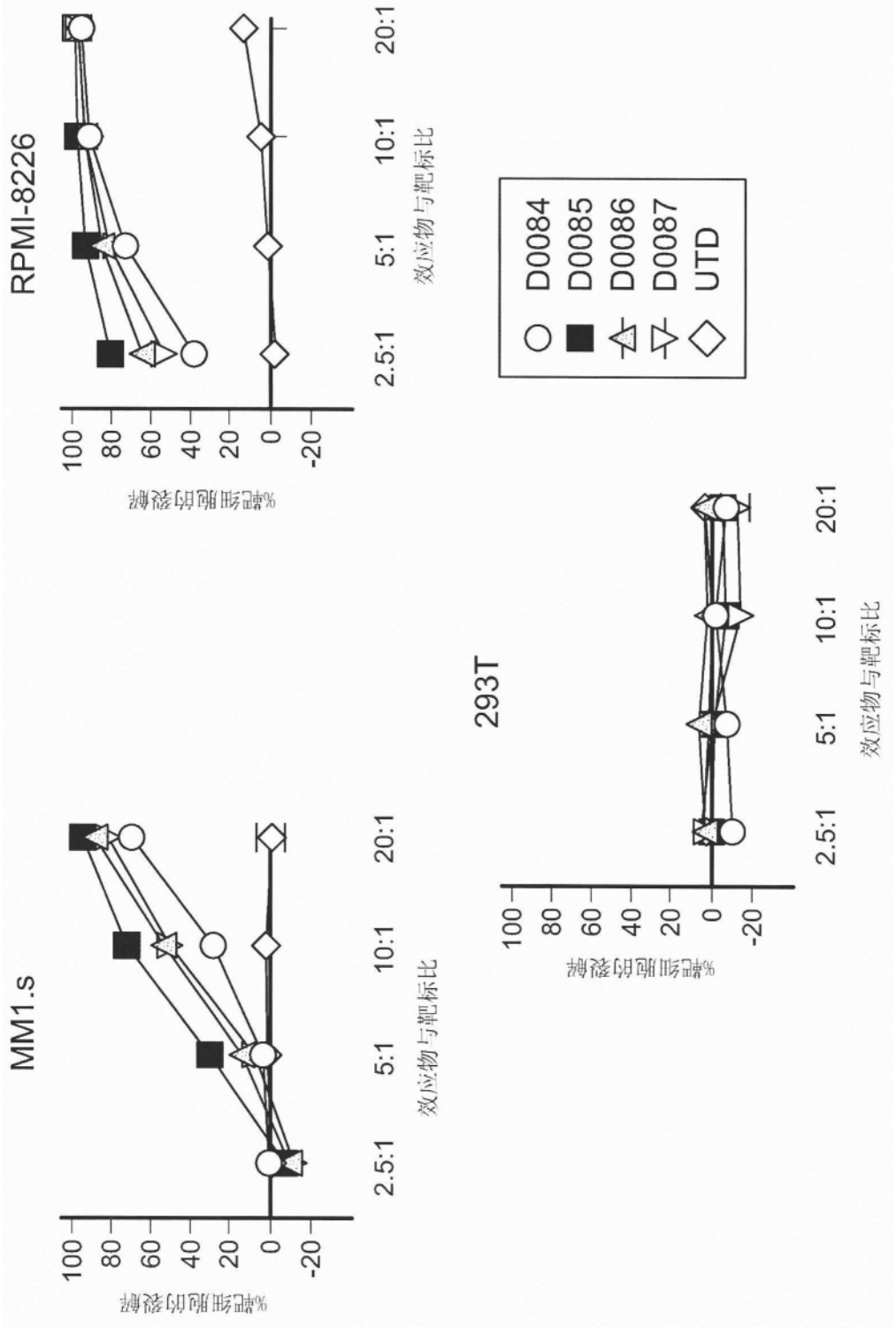
RPMI-8226
MM1.s
293T
D0084
D0085
D0086
D0087
UTD
%靶细胞的裂解
效应物与靶标比
2.5:1
5:1
10:1
20:1
100
80
60
40
20
0
-20

图5A

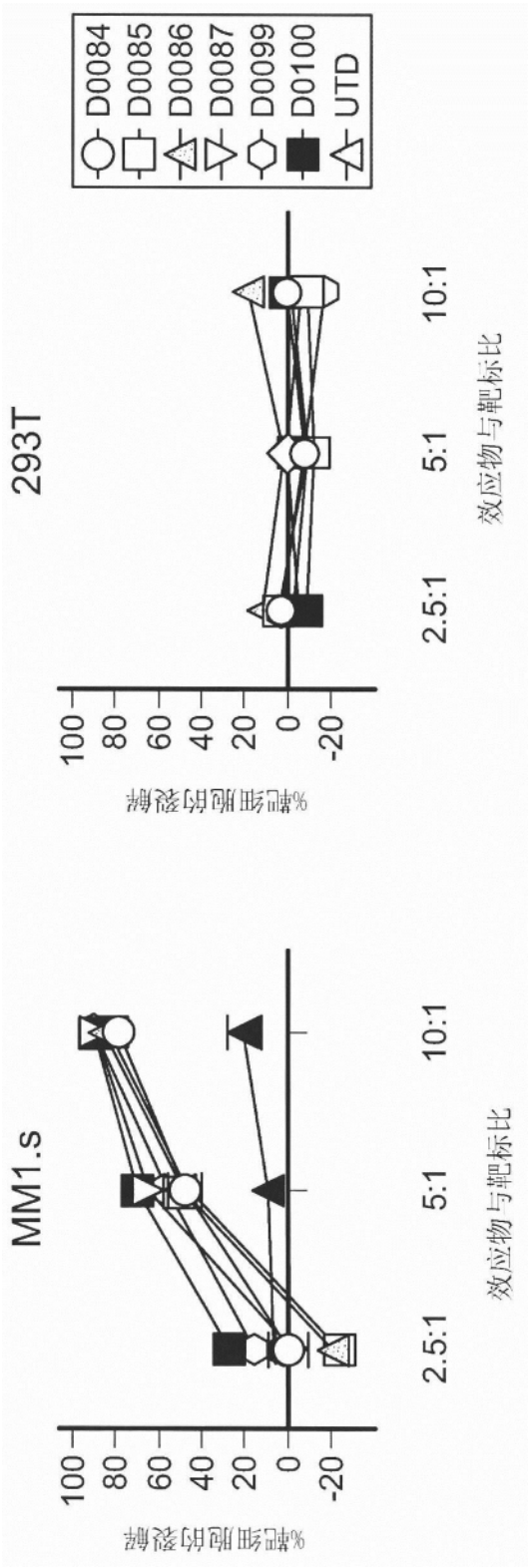
D0084
D0085
D0086
D0087
D0099
D0100
UTD
293T
MM1.s
%靶细胞的裂解
100
80
60
40
20
0
-20
2.5:1
5:1
10:1
效应物与靶标比

图5B

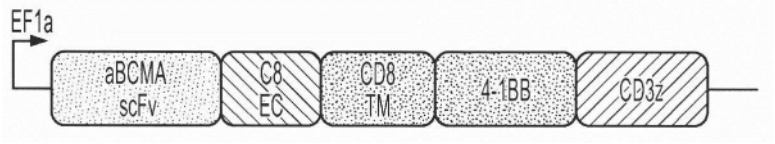
EF1a
aBCMA scFv
C8 EC
CD8 TM
4-1BB
CD3z

图6A

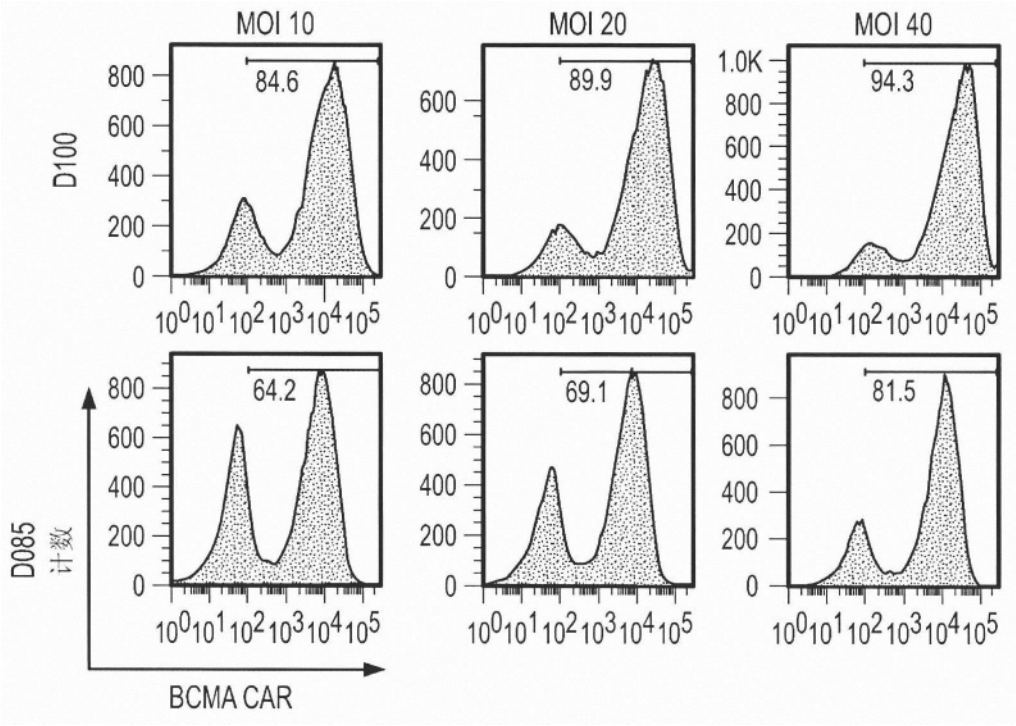
MOI 10
MOI 20
MOI 40
84.6
89.9
94.3
64.2
69.1
81.5
D100
D085
计数
BCMA CAR

图6B

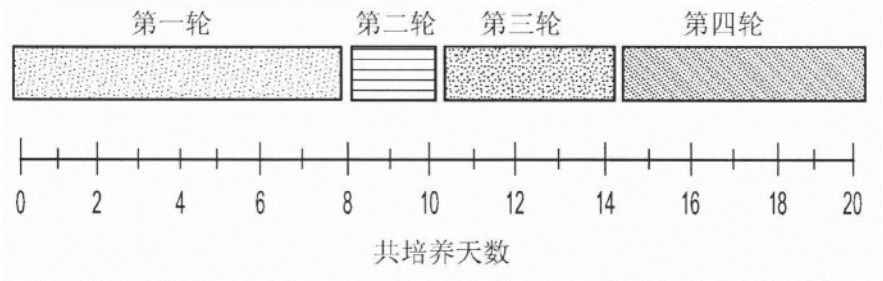
第一轮
第二轮
第三轮
第四轮
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20
共培养天数

图6C

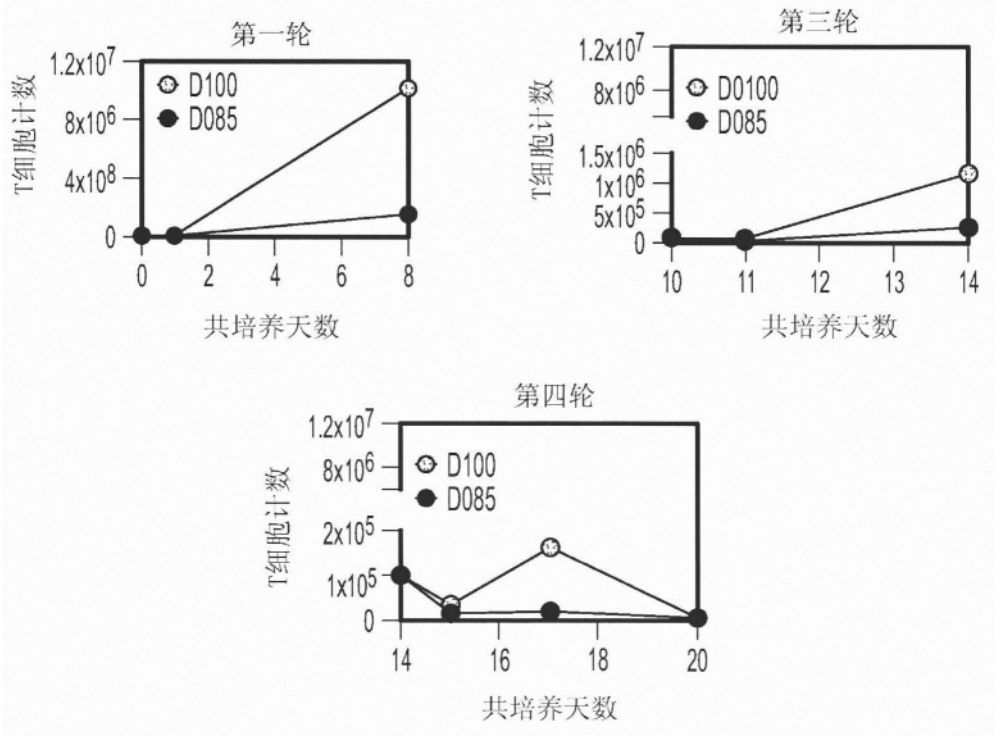
第一轮
T细胞计数
1.2x10^7
8x10^6
4x10^8
0
D100
D085
0 2 4 6 8
共培养天数
第三轮
T细胞计数
1.2x10^7
8x10^6
1.5x10^6
1x10^6
5x10^5
0
D0100
D085
10 11 12 13 14
共培养天数
第四轮
T细胞计数
1.2x10^7
8x10^6
2x10^5
1x10^5
0
D100
D085
14 16 18 20
共培养天数

图6D

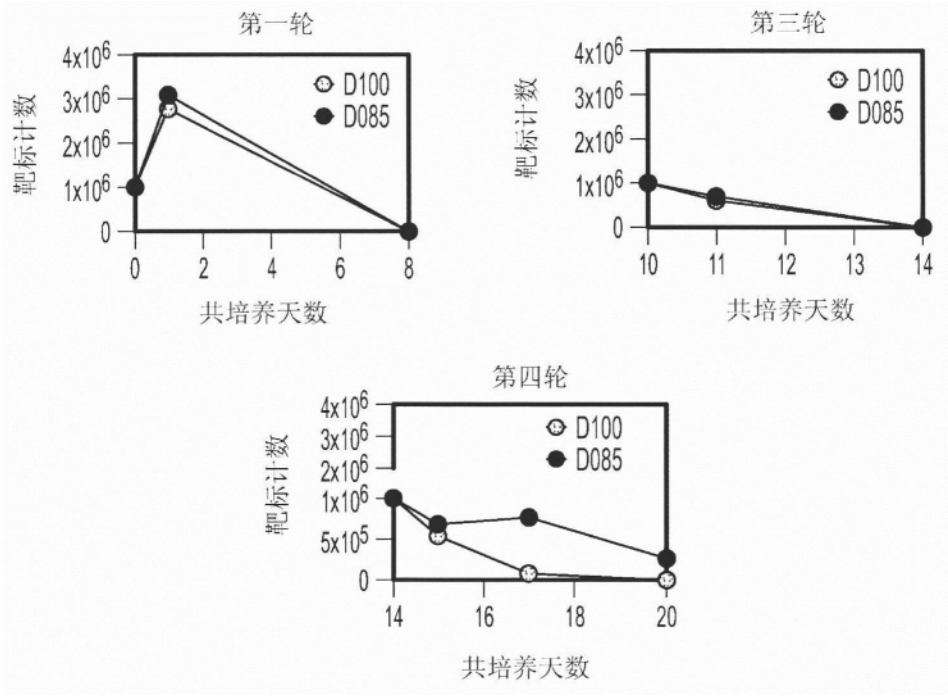
第一轮
靶标计数
4x10^6
3x10^6
2x10^6
1x10^6
0
D100
D085
0 2 4 6 8
共培养天数
第三轮
靶标计数
4x10^6
3x10^6
2x10^6
1x10^6
0
D100
D085
10 11 12 13 14
共培养天数
第四轮
靶标计数
4x10^6
3x10^6
2x10^6
1x10^6
5x10^5
0
D100
D085
14 16 18 20
共培养天数

图6E

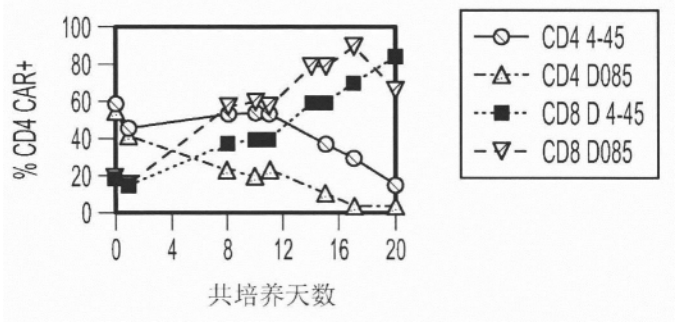
% CD4 CAR+
100
80
60
40
20
0
0
4
8
12
16
20
共培养天数
CD4 4-45
CD4 D085
CD8 D 4-45
CD8 D085

图6F

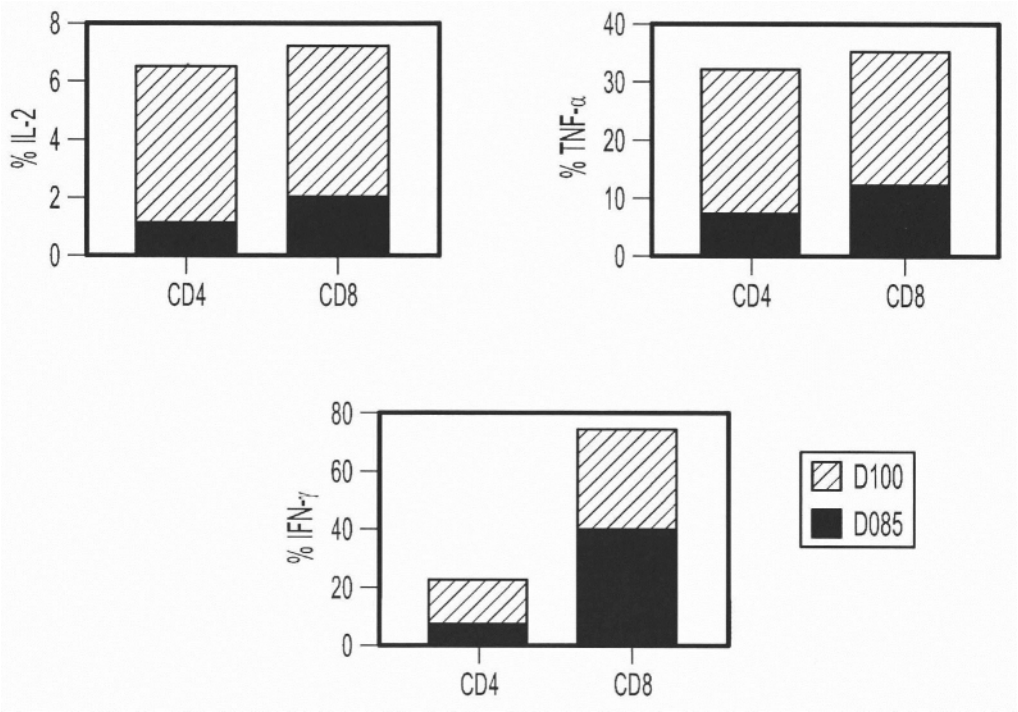
% IL-2
8
6
4
2
0
CD4
CD8
% TNF-α
40
30
20
10
0
CD4
CD8
% IFN-γ
80
60
40
20
0
CD4
CD8
D100
D085

图6G

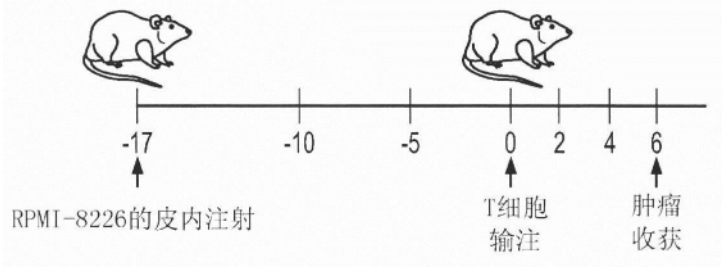
-17
-10
-5
0
2
4
6
RPMI-8226的皮内注射
T细胞
输注
肿瘤
收获

图7A

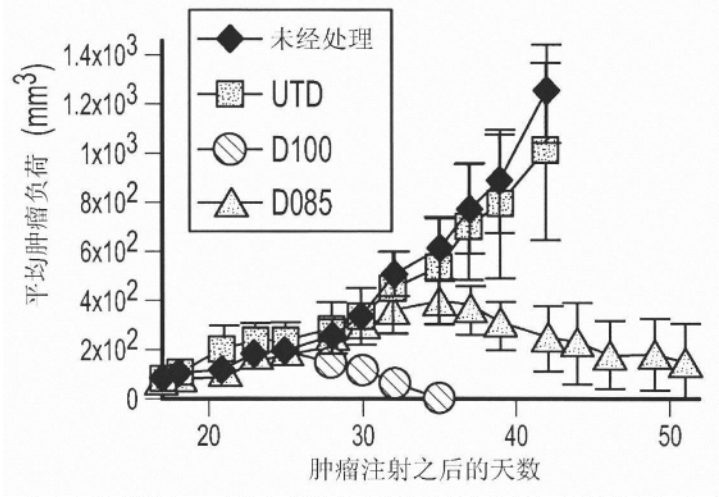
未经处理
UTD
D100
D085
平均肿瘤负荷 (mm3)
1.4x10^3
1.2x10^3
1x10^3
8x10^2
6x10^2
4x10^2
2x10^2
0
20
30
40
50
肿瘤注射之后的天数

图7B

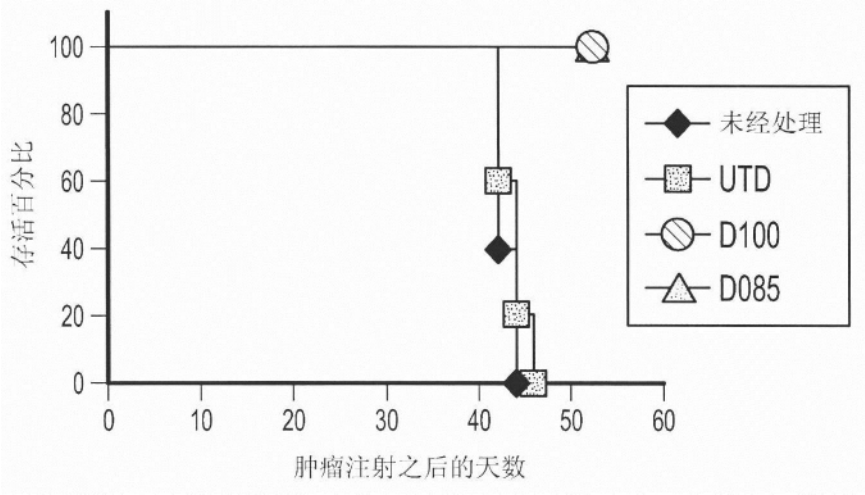
存活百分比
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
50
60
肿瘤注射之后的天数
未经处理
UTD
D100
D085

图7C

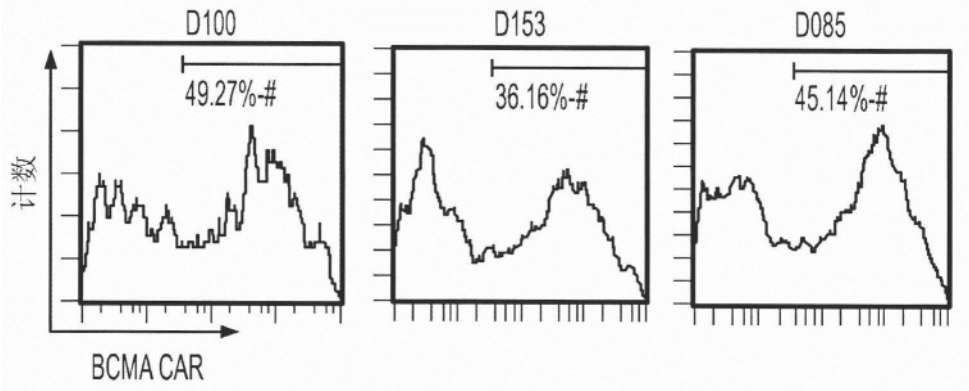
D100
D153
D085
49.27%-#
36.16%-#
45.14%-#
计数
BCMA CAR

图8A

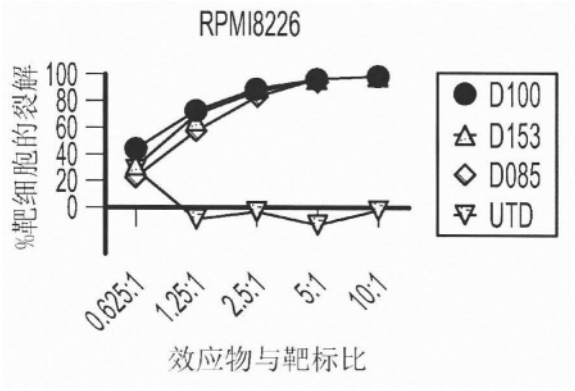
RPMI8226
%靶细胞的裂解
100
80
60
40
20
0
D100
D153
D085
UTD
0.625:1
1.25:1
2.5:1
5:1
10:1
效应物与靶标比

图8B

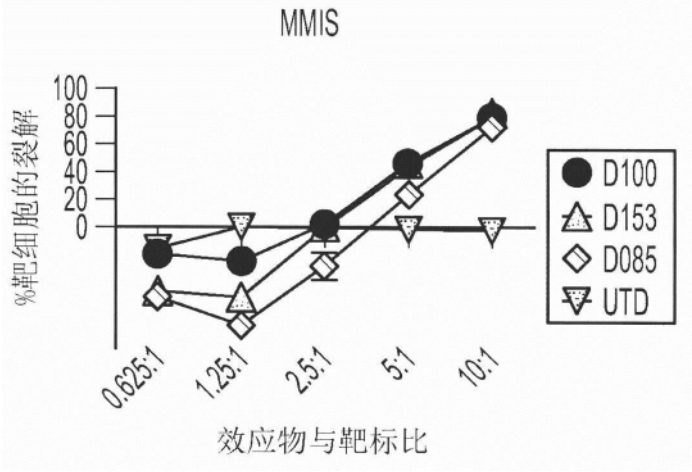
MMIS
%靶细胞的裂解
100
80
60
40
20
0
D100
D153
D085
UTD
0.625:1
1.25:1
2.5:1
5:1
10:1
效应物与靶标比

图8C

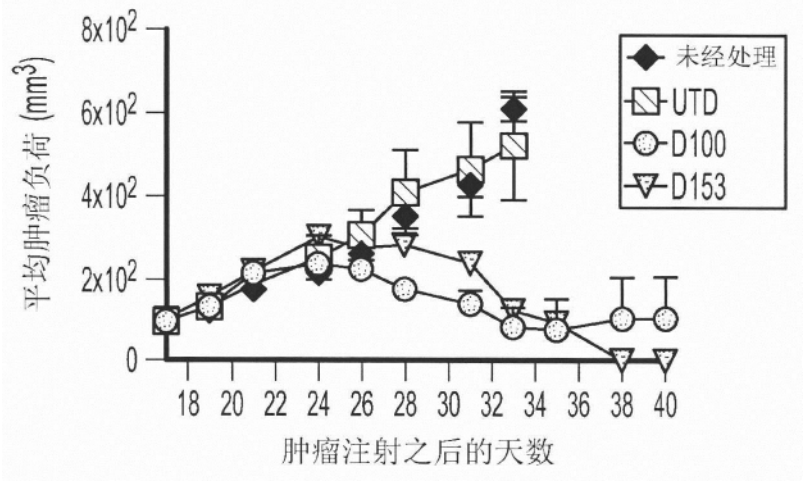
平均肿瘤负荷 (mm3)
8x10^2
6x10^2
4x10^2
2x10^2
0
未经处理
UTD
D100
D153
18 20 22 24 26 28 30 32 34 36 38 40
肿瘤注射之后的天数

图8D

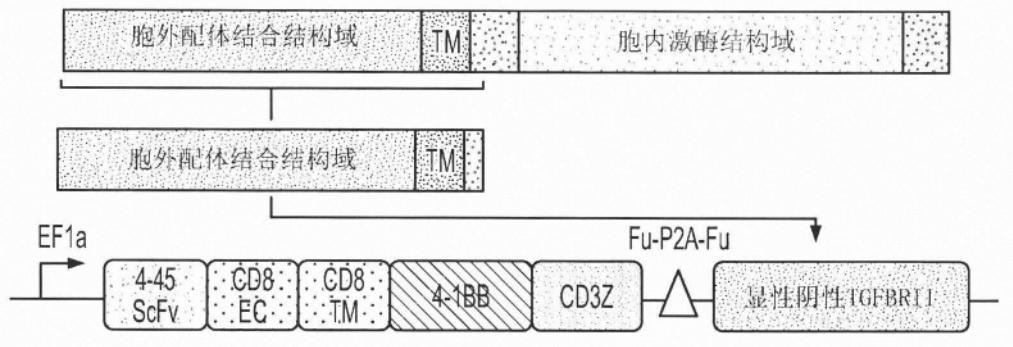
胞外配体结合结构域
TM
胞内激酶结构域
胞外配体结合结构域
TM
EF1a
Fu-P2A-Fu
4-45 ScFv
CD8 EC
CD8 TM
4-1BB
CD3Z
显性阴性TGFBRII

图9A

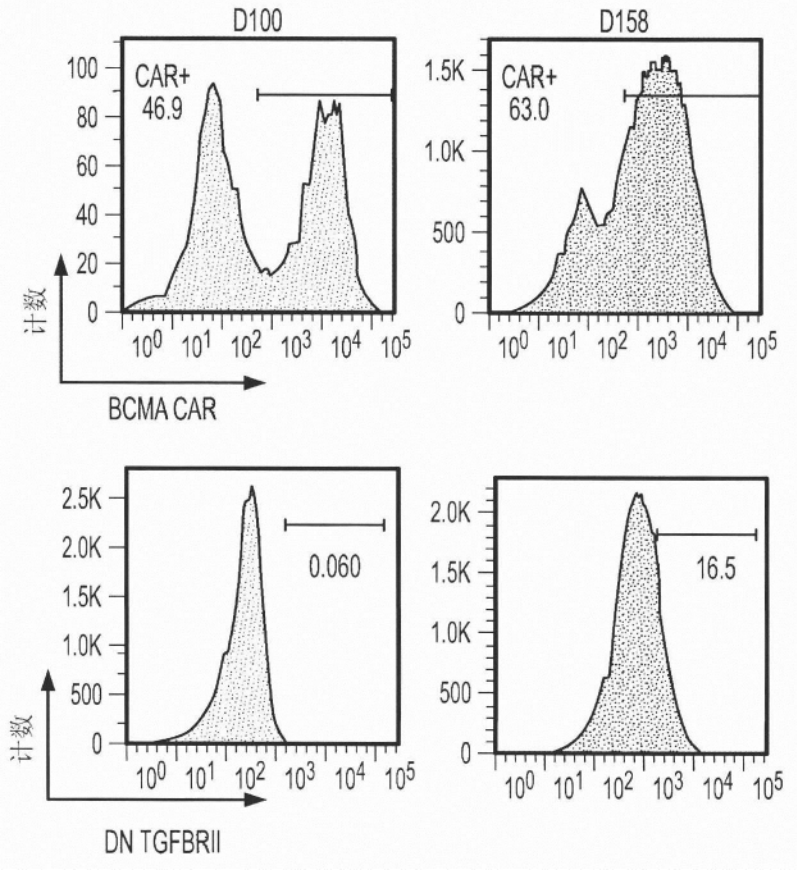
D100
CAR+ 46.9
D158
CAR+ 63.0
计数
BCMA CAR
0.060
16.5
计数
DN TGFBRII

图9B

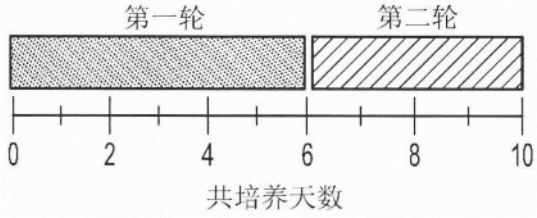
第一轮
第二轮
0
2
4
6
8
10
共培养天数

图9C

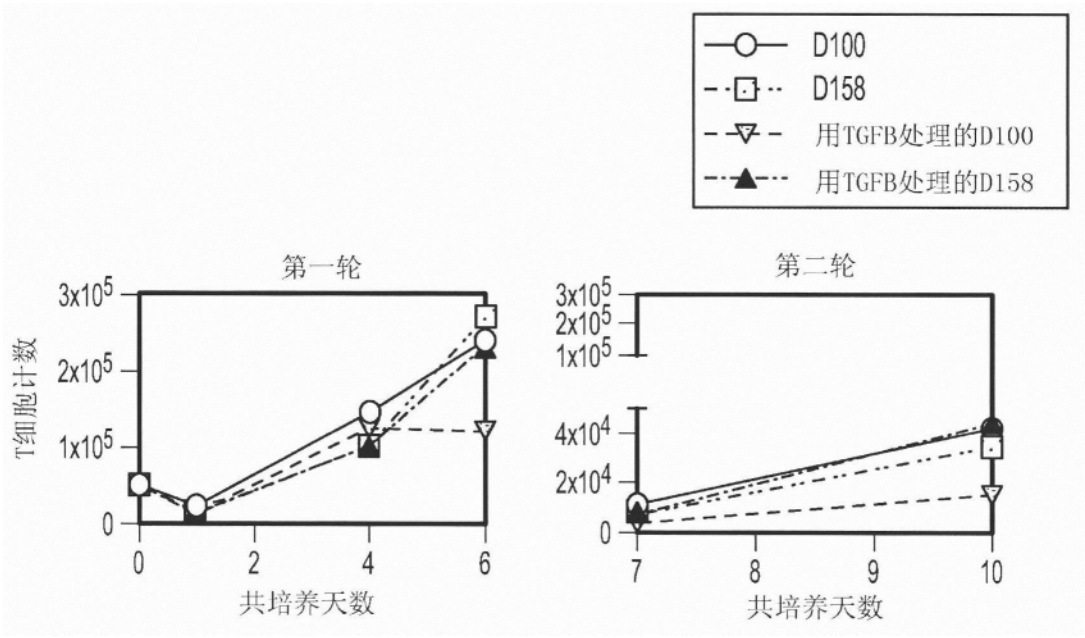
D100
D158
用TGFB处理的D100
用TGFB处理的D158
第一轮
第二轮
T细胞计数
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
4x10^4
2x10^4
0
2
4
6
7
8
9
10
共培养天数
共培养天数

图9D

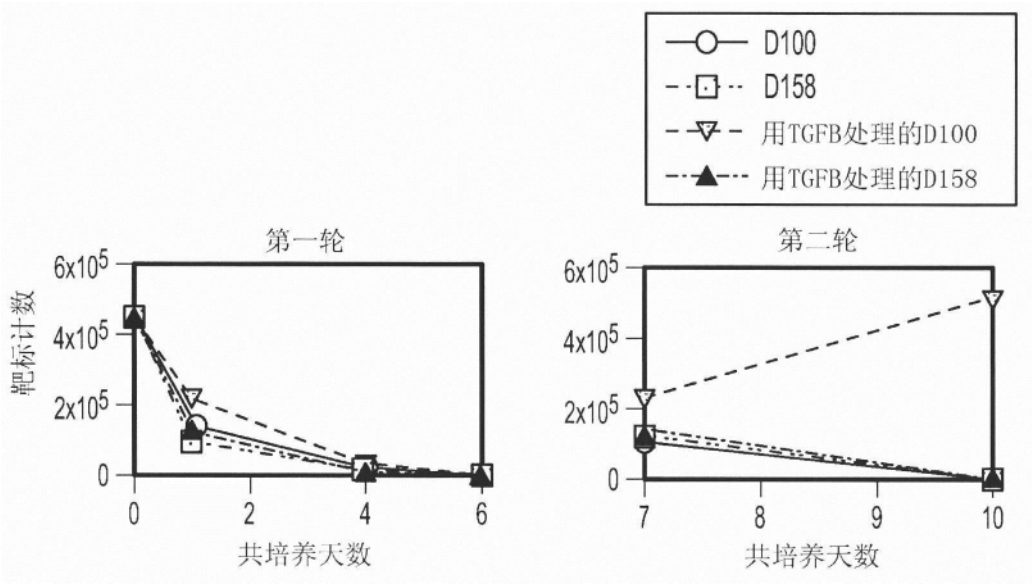
D100
D158
用TGFB处理的D100
用TGFB处理的D158
第一轮
第二轮
靶标计数
6x10^5
4x10^5
2x10^5
0
2
4
6
7
8
9
10
共培养天数
共培养天数

图9E

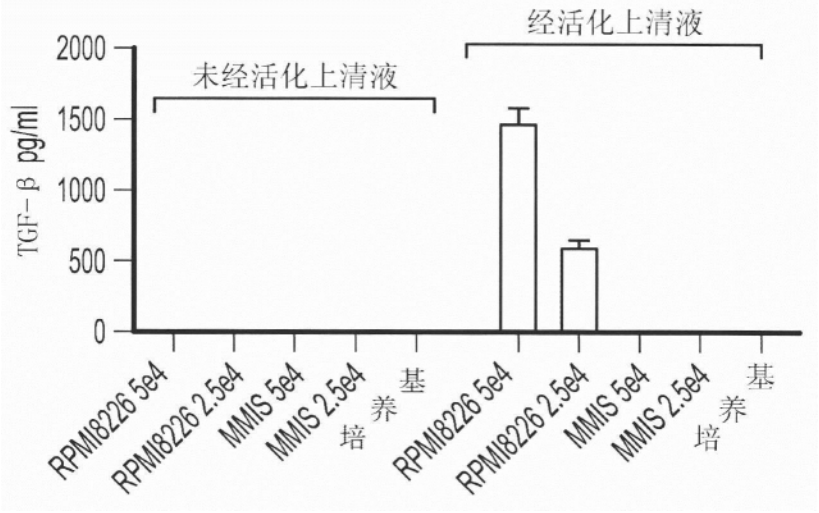

图10A

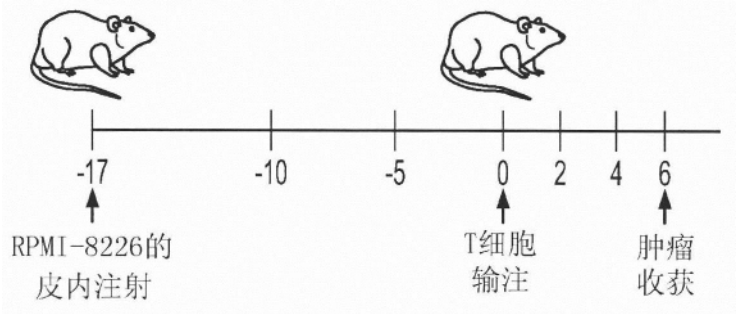

图10B

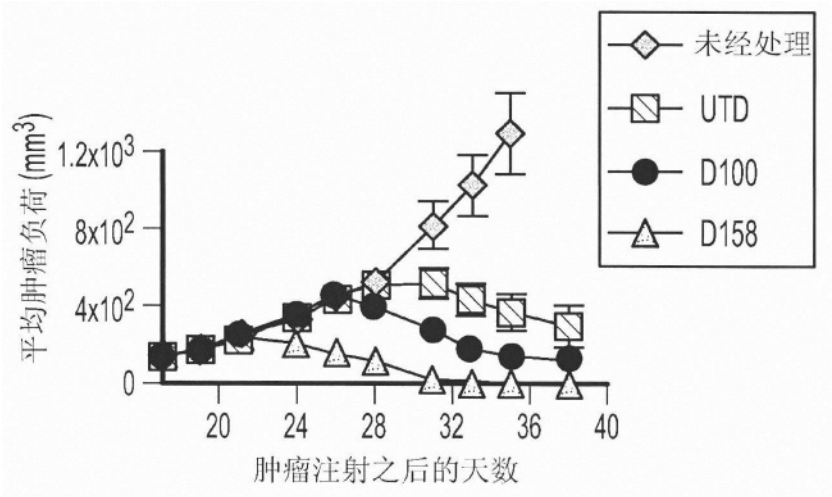

图10C

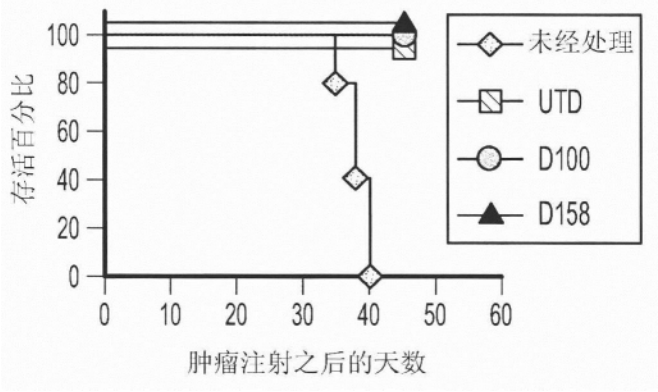

图10D

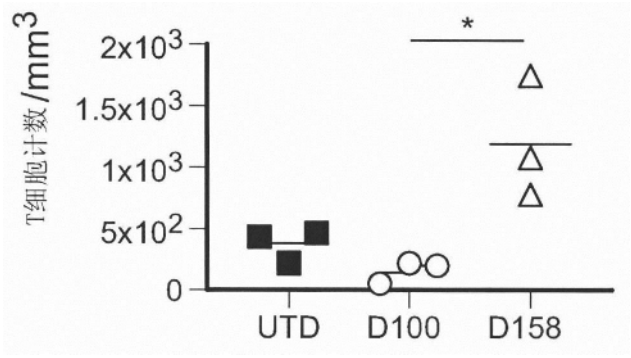

图10E

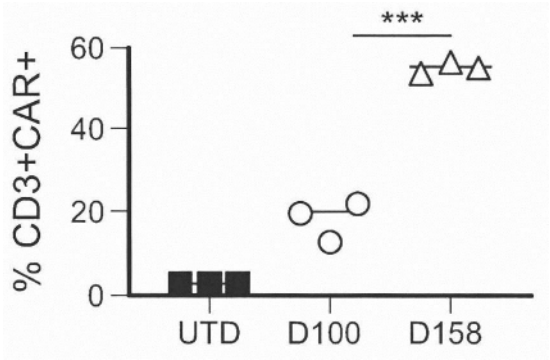

图10F

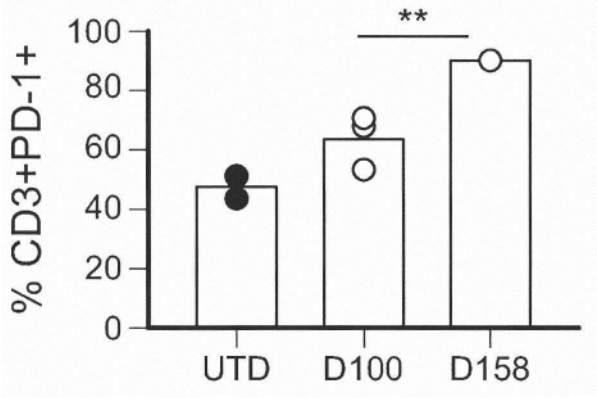
% CD3+PD-1+
100
80
60
40
20
0
**
UTD
D100
D158

图10G

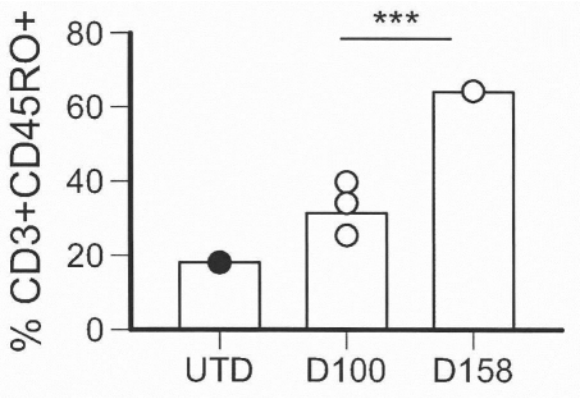
% CD3+CD45RO+
80
60
40
20
0
***
UTD
D100
D158

图10H