

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6543197号
(P6543197)

(45) 発行日 令和1年7月17日(2019.7.17)

(24) 登録日 令和1年6月21日(2019.6.21)

| | | | |
|--------------|-----------|------|-------|
| (51) Int.Cl. | F 1 | | |
| C07K 16/28 | (2006.01) | C07K | 16/28 |
| C07K 16/46 | (2006.01) | C07K | 16/46 |
| C12N 15/13 | (2006.01) | C12N | 15/13 |
| C12N 15/62 | (2006.01) | C12N | 15/62 |
| C12N 1/15 | (2006.01) | C12N | 1/15 |

請求項の数 23 (全 247 頁) 最終頁に続く

| | |
|---------------|-------------------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2015-562182 (P2015-562182) |
| (86) (22) 出願日 | 平成26年3月14日 (2014.3.14) |
| (65) 公表番号 | 特表2016-511277 (P2016-511277A) |
| (43) 公表日 | 平成28年4月14日 (2016.4.14) |
| (86) 國際出願番号 | PCT/EP2014/055066 |
| (87) 國際公開番号 | W02014/140248 |
| (87) 國際公開日 | 平成26年9月18日 (2014.9.18) |
| 審査請求日 | 平成29年3月9日 (2017.3.9) |
| (31) 優先権主張番号 | 61/793,235 |
| (32) 優先日 | 平成25年3月15日 (2013.3.15) |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) |

前置審査

| | |
|-----------|---|
| (73) 特許権者 | 512244819 アムゲン リサーチ (ミュンヘン) ゲ ーエムベーハー AMGEN Research (Munich) GmbH ドイツ 81477 ミュンヘン シュタ ッフェルゼー シュトラーセ 2 |
| (73) 特許権者 | 500049716 アムジエン・インコーポレーテッド アメリカ合衆国 カリフォルニア州 91 320, サウザンド オークス, ワン ア ムジエン センター ドライブ |
| (74) 代理人 | 100102978 弁理士 清水 初志 |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 BCMA および CD3 に対する結合分子

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第1および第2の結合ドメインを含み、かつGSTタグ、FLAGタグ、またはポリヒスチジンタグであるタンパク質精製タグを少なくとも1つ含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって、

(a) 第1の結合ドメインが抗体に由来し、かつBCMAに結合でき、かつ、

(b) 第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合でき、

ポリヒスチジンタグが(a)6ヒスチジン残基長であるかもしくはそれより長く、かつ/または(b)ポリヒスチジンタグが結合分子のカルボキシ末端もしくはアミノ末端に存在し、第1の結合ドメインが、

(1) SEQ ID NO: 331に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 332に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 333に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 334に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 335に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 336に示されるCDR-L3；

(2) SEQ ID NO: 171に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 172に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 173に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 174に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 175に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 176に示されるCDR-L3；

(3) SEQ ID NO: 651に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 652に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 653に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 654に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 655に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 656に示されるCDR-L3；

(4) SEQ ID NO: 731に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 732に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:

10

20

733に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 734に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 735に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 736に示されるCDR-L3；

(5) SEQ ID NO: 811に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 812に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 813に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 814に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 815に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 816に示されるCDR-L3；および

(6) SEQ ID NO: 971に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 972に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 973に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 974に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 975に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 976に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む、

結合分子。

10

【請求項2】

第1の結合ドメインが、マカクBCMAにさらに結合できる、請求項1に記載の結合分子。

【請求項3】

第2の結合ドメインが、CD3イプシロンに結合できる、請求項1または2に記載の結合分子。

【請求項4】

第2の結合ドメインが、ヒトCD3およびマカクCD3に結合できる、請求項1～3のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項5】

20

第2の結合ドメインが抗体由来である、請求項1～4のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項6】

(scFv)₂、(單一ドメインmAb)₂、scFv-單一ドメインmAb、ダイアボディおよびこれらのオリゴマーからなる群より選択される、請求項5に記載の結合分子。

【請求項7】

第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 337、SEQ ID NO: 187、SEQ ID NO: 227、SEQ ID NO: 317、SEQ ID NO: 647、SEQ ID NO: 737、SEQ ID NO: 747、SEQ ID NO: 757、SEQ ID NO: 767、およびSEQ ID NO: 977に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項8】

30

第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 338、SEQ ID NO: 178、SEQ ID NO: 228、SEQ ID NO: 318、SEQ ID NO: 658、SEQ ID NO: 668、SEQ ID NO: 708、SEQ ID NO: 718、SEQ ID NO: 818、SEQ ID NO: 828、SEQ ID NO: 838、およびSEQ ID NO: 978に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項9】

第1の結合ドメインが、

(1) SEQ ID NO: 337に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 338に示されるVL領域；

(2) SEQ ID NO: 177に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 178に示されるVL領域；

(3) SEQ ID NO: 197に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 198に示されるVL領域；

(4) SEQ ID NO: 227に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 228に示されるVL領域；

40

(5) SEQ ID NO: 317に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 318に示されるVL領域；

(6) SEQ ID NO: 657に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 658に示されるVL領域；

(7) SEQ ID NO: 667に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 668に示されるVL領域；

(8) SEQ ID NO: 707に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 708に示されるVL領域；

(9) SEQ ID NO: 717に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 718に示されるVL領域；

(10) SEQ ID NO: 737に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 738に示されるVL領域；

(11) SEQ ID NO: 747に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 748に示されるVL領域；

(12) SEQ ID NO: 757に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 758に示されるVL領域；

(13) SEQ ID NO: 767に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 768に示されるVL領域；

(14) SEQ ID NO: 817に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 818に示されるVL領域；

50

(15) SEQ ID NO: 827に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 828に示されるVL領域；
 (16) SEQ ID NO: 837に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 838に示されるVL領域；ならびに

(17) SEQ ID NO: 977に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 978に示されるVL領域からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 1 0】

第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 339、SEQ ID NO: 179、SEQ ID NO: 199、SEQ ID NO: 229、SEQ ID NO: 319、SEQ ID NO: 659、SEQ ID NO: 669、SEQ ID NO: 709、SEQ ID NO: 719、SEQ ID NO: 739、SEQ ID NO: 749、SEQ ID NO: 759、SEQ ID NO: 769、SEQ ID NO: 819、SEQ ID NO: 829、SEQ ID NO: 839、およびSEQ ID NO: 979からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、請求項9に記載の結合分子。
 10

【請求項 1 1】

SEQ ID NO: 340またはSEQ ID NO: 980に示されるアミノ酸配列を含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の結合分子。

【請求項 1 2】

ポリヒスチジンタグを含む、請求項11に記載の結合分子。

【請求項 1 3】

ポリヒスチジンタグが、C末端に位置しあつペプチド結合を通じて連結されているヘキサヒスチジンタグ(HHHHHH)である、請求項12に記載の結合分子。
 20

【請求項 1 4】

請求項1～13のいずれか一項に記載の結合分子をコードする、核酸分子。

【請求項 1 5】

請求項14に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 1 6】

請求項14に記載の核酸分子または請求項15に記載のベクターで形質転換またはトランسفエクトされた、宿主細胞。

【請求項 1 7】

請求項1～13のいずれか一項に記載の結合分子の発現を可能にする条件下で請求項16に記載の宿主細胞を培養する工程、および、產生された結合分子を培養物から回収する工程を含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の結合分子の製造プロセス。
 30

【請求項 1 8】

請求項1～13のいずれか一項に記載の結合分子または請求項17に記載のプロセスによって製造された結合分子を含む、薬学的組成物。

【請求項 1 9】

形質細胞障害、BCMA発現と相關する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の予防、処置または寛解のための医薬の製造における、請求項1～13のいずれか一項に記載の結合分子または請求項17に記載のプロセスによって製造された結合分子の使用。

【請求項 2 0】

請求項1～13のいずれか一項に記載の結合分子または請求項17に記載のプロセスによって製造された結合分子を含む、形質細胞障害、BCMA発現と相關する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の処置または寛解のための薬学的組成物。
 40

【請求項 2 1】

形質細胞障害が、多発性骨髄腫、形質細胞腫、形質細胞性白血病、マクログロブリン血症、アミロイドーシス、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性骨形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローニンググロブリン血症、およびくすぶり型多発性骨髄腫からなる群より選択される、請求項20に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 2】

自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデスである、請求項20に記載の薬学的組成物。

【請求項 2 3】

請求項1～13のいずれか一項に記載の結合分子、請求項14に記載の核酸分子、請求項15に記載のベクター、および／または請求項16に記載の宿主細胞を含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、第1の結合ドメインがBCMAのエピトープクラスターに結合でき、第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合できる、第1および第2の結合ドメインを含む少なくとも二重特異性である結合分子に関する。さらに、本発明は、該結合分子をコードする核酸配列、該核酸配列を含むベクターおよび該ベクターで形質転換またはトランスフェクトされた宿主細胞を提供する。さらに、本発明は、本発明の結合分子を生産するプロセス、該結合分子の医学的使用および該結合分子を含むキットを提供する。10

【背景技術】

【0 0 0 2】

背景

BCMA（B細胞成熟抗原、TNFRSF17、CD269）は、TNF受容体スーパーファミリーに属する膜貫通タンパク質である。BCMAは、最初に、ヒト成熟Bリンパ球のゴルジ装置の内在性膜タンパク質として、すなわち細胞内タンパク質として報告され（Gras et al., (1995) International Immunol 7(7): 1093-1105）、これによりBCMAがB細胞の発達および恒常性において重要な役割を有する可能性が示された。Grasらの発見は、Grasらに記載されたBCMAタンパク質が染色体転座によるBCMAとIL-2の間の融合タンパク質である、という事実に伴うものであるとも考えられる。しかし、同時に、BCMAは、そのリガンドであるBAFF（B細胞活性化因子）、これはTALL-1またはTNFSF13Bとも呼ばれる、およびAPRIL（増殖誘導性リガンド）とのおそらく必須の相互作用から、B細胞の発達および恒常性に必須のB細胞マーカーであることが確認されている（Schliemann et al., (2001) Science 293 (5537): 2111-2114）。20

【0 0 0 3】

BCMAの発現は、B細胞系に限定され、主として形質細胞および形質芽球に存在し、記憶B細胞にある程度存在するが、末梢およびナイーブB細胞には実質的に存在しない。BCMAはまた、多発性骨髄腫（MM）細胞で発現される。そのファミリーメンバーである膜貫通型活性化因子・シクロフィリンリガンド相互作用因子（TACI）およびTNFファミリー受容体のB細胞活性化因子（BAFF-R）と共に、BCMAは、液性免疫、B細胞の発達および恒常性の様々な局面を調節する。BCMAの発現は、B細胞の分化のやや後期で見られ、骨髄における形質芽球および形質細胞の長期生存に寄与する。マウスにおけるBCMA遺伝子の特異的欠失は、成熟B細胞の生成、液性免疫応答の質および規模、胚中心の形成ならびに短命形質細胞の生成に影響しない。しかし、そのようなマウスは、骨髄における長命形質細胞の数を有意に減らし、このことはBCMAがそれらの生存に重要であることを示している（O'Connor et al., 2004）。30

【0 0 0 4】

この知見から示されるように、BCMAはまた、多発性骨髄腫（MM）細胞の成長および生存も支援する。Novakらは、MM細胞株および新たに単離したMM細胞がそれらの細胞表面上にBCMAおよびTACIタンパク質を発現することおよびそれらの細胞表面上でのBAFF-Rタンパク質の発現にばらつきがあることを見出した（Novak et al., (2004) Blood 103(2): 689-694）。

【0 0 0 5】

多発性骨髄腫（MM）は、2番目に多い一般的な血液学的悪性腫瘍であり、癌による死全体の2%を占めている。MMは、不均一疾患（heterogenous disease）であり、主として染色体転座、特にt(11;14)、t(4;14)、t(8;14)、del(13)、del(17)によって引き起こされる（Drach et al. (1998) Blood 92(3): 802-809; Gertz et al., (2005) Blood 106(8): 24050

837-2840; Facon et al., (2001) Blood 97(6): 1566-1571)。MMに罹患した患者は、骨髓浸潤、骨破壊、腎不全、免疫不全および癌の診断という心理社会的負荷に起因する様々な疾患関連症状を経験し得る。2006年の時点で、MMの5年相対生存率はおよそ34%であり、このことはMMが処置困難な疾患であり現時点で根治的選択肢がないことを強調している。

【0006】

化学療法および幹細胞移植アプローチ等の画期的な新治療法が利用可能になり、生存率は改善されてきたが、これらはしばしば望ましくない副作用をもたらし、そのためMMはなおも治療困難なままである (Lee et al., (2004) J Natl Compr Canc Netw 8(4): 379-383)。今日までに、多発性骨髓腫患者に対して最も頻繁に使用されている2つの処置選択肢は、ステロイド、サリドマイド、レナリドマイド、ボルテゾミブまたは様々な細胞毒性剤の併用、および、若年患者に対する、自家幹細胞移植を用いる高用量化学療法コンセプトである。10

ほとんどの移植は自家タイプ、すなわち、患者自身の細胞を使用するものである。そのような移植は、根治的でないものの、選択された患者において寿命を延ばすことが示されている。それらは、新たに診断された患者の最初の治療としてまたは再発時に行われ得る。ときには、選択された患者に対して、疾患を十分に制御するために2回以上の移植が推奨され得る。

【0007】

この疾患の処置に使用される化学療法剤は、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチンおよびメルファランであり、免疫調整剤、例えばサリドマイド (Thalomid (登録商標))、レナリドマイド (Revlimid (登録商標))、ボルテゾミブ (Velcade (登録商標)) およびコルチコステロイド (例えば、デキサメタゾン)との併用療法が、新たに診断された患者および化学療法または移植が奏功しなかった進行疾患患者の両方における骨髓腫の処置の重要な選択肢として登場した。20

【0008】

現在使用されている治療は通常根治的ではない。幹細胞移植は、高齢、他の深刻な疾患の存在またはその他の身体的制約から、多くの患者にとっての選択肢にはなり得ない。化学療法は、多発性骨髓腫を部分的にしか制御せず、完全寛解に導くことはまれである。したがって、新規の、革新的な処置に対する緊急の要望が存在する。30

【0009】

Bellucciら (Blood, 2005; 105(10)) は、ドナーリンパ球輸注 (DLI) を受けた後の多発性骨髓腫患者においてBCMA特異的抗体を同定した。これらの患者の血清は、ADCCおよびCDCによるBCMA特異的細胞溶解を媒介することができ、そしてこれは抗腫瘍応答を示す患者においてのみ検出され (4/9)、非応答患者では検出されなかった (0/6)。同著者は、BCMA特異的抗体の誘導が骨髓腫細胞の排除および患者の長期的寛解に寄与すると推測している。

【0010】

Ryanら (Mol. Cancer Ther. 2007; 6(11)) は、正常および悪性のB細胞における強い生存促進シグナル経路に関連するNF- κ Bの活性化を防止する拮抗性のBCMA特異的抗体を生成したことを報告した。加えて、この抗体は、インビトロで、Fc工学によって大きく強化された、多発性骨髓腫細胞株に対する強い抗体依存的細胞媒介細胞毒性 (ADCC) を示した。40

【0011】

血液性腫瘍または自己免疫障害に対抗する他のアプローチは、BAFFおよびAPRIL、すなわちTNFリガンドスーパーファミリーのリガンドと、BAFFおよび/またはAPRILによって活性化されるそれらの受容体TACI、BAFF-RおよびBCMAの間の相互作用に着目するものである。例えば、Zymogenetics, Inc. は、TACIにヒト免疫グロブリンのFcドメインを融合することによって、これらのリガンドの両方を中和し受容体活性化を防止するアタシセプト (TACI-Ig) を生成した。アタシセプトは、現在、全身性エリテマトーデス (SLE、第III相)、多発性硬化症 (MS、第II相) および関節リウマチ (RA、第II相) の処置に関する臨床試験50

験下、ならびにB細胞悪性慢性リンパ性白血病（CLL）、非ホジキンリンパ腫（NHL）およびMMの処置に関する第I相臨床試験下にある。前臨床研究において、アタシセプトは、インビトロ（Moreaux et al, Blood, 2004, 103）およびインビボ（Yaccoby et al, Leukemia, 2008, 22, 406-13）で原発性MM細胞およびMM細胞株の成長および生存を低下させ、TACIリガンドとMM細胞の関連性を実証した。ほとんどのMM細胞および派生細胞株がBCMAおよびTACIを発現するので、両方の受容体ともリガンドにより媒介される成長および生存に寄与していると考えられる。これらのデータは、BCMAおよびTACIの両方に対する拮抗作用が形質細胞障害の処置において有益であり得ることを示唆している。

加えて、TACIと交差反応するBCMA特異的抗体も記載されている（WO 02/066516）。

【0012】

10

Human Genome SciencesおよびGlaxoSmithKlineは、ベリムマブと呼ばれるBAFFを標的化する抗体を開発した。ベリムマブは、可溶性のBAFFがそのB細胞上の受容体であるBAFF-R、BCMAおよびTACIに結合することによってベリムマブは、自己反応性B細胞を含むB細胞の生存を阻害し、B細胞から免疫グロブリン産生形質細胞への分化を減少させる。

【0013】

BCMA；BAFF-RおよびTACI、すなわちTNF受容体スーパーファミリーに属するB細胞受容体ならびにそれらのリガンドであるBAFFおよびAPRILが癌および／または自己免疫障害に対抗する治療に利用されているものの、そのような医学的状態の処置のためのさらなる選択肢が利用可能となることが依然として望まれている。

20

【発明の概要】

【0014】

よって、本明細書では、この問題を解決するための手段および方法を、細胞毒性細胞すなわち細胞毒性T細胞に対する1つの結合ドメインおよびBCMAに対する第2の結合ドメインを有する少なくとも二重特異性である結合分子の形態で提供する。

【0015】

したがって、第1の局面において、本発明は、第1および第2の結合ドメインを含む少なくとも二重特異性である結合分子を提供し、ここで

(a) 第1の結合ドメインは、本明細書で定義されるBCMAのエピトープクラスターに結合でき；そして

30

(b) 第2の結合ドメインは、T細胞CD3受容体複合体に結合できる。

【0016】

多数の生物医薬、例えば抗体および／またはその他の生理活性タンパク質がこの10年間で生産されたが、それらの効率的な生産はいまだ困難な作業である。特に、抗体調製物において、治療的に有効な用量は、多くの場合、投与1回あたりミリグラム（mg）のオーダーである。したがって、相当量の抗体が活性成分として必要となる。そのような抗体の、例えば異種宿主細胞（例えば、大腸菌（E.coli）、酵母またはCHO）における効率的生産を可能にする技術は、抗体調製の費用を削減し、患者に対する安価かつさらに安定な供給を約束するであろう。

治療用抗体を精製する間に、不純物、例えば宿主細胞タンパク質、宿主細胞DNA、プロセスに関連する混入物質（例えば、内毒素またはウイルス粒子）および生産物の変種が、除去されなければならない。使用される精製技術は、効率的であり、費用対効果の優れた、信頼性のあるものでなければならず、かつ最終製品の厳格な純度要件を満たさなければならない。現在の精製技術は、典型的に、複数のクロマトグラフィー分離を行うものである。クロマトグラフィー技術は、特に、高度の精製を達成するために、タンパク質の化学的および物理的特性を利用する。これらの化学的および物理的特性は、例えば、サイズ、等電点、電荷分布、疎水性部位等を含む。クロマトグラフィーの様々な分離様式は：イオン交換、クロマトフォーカス、ゲルろ過（サイズ排除）、疎水性相互作用、逆相および親和性クロマトグラフィーを含む。アニオン交換およびカチオン交換クロマトグラフィーを含むイオン交換クロマトグラフィー（IEX）は、それらの正味表面電荷の違いにより分析

40

50

物（例えば、治療用タンパク質）を分離する。IEXは、発現されたタンパク質を細胞残骸およびその他の不純物から分離する上での主要ツールである。今日、IEXは、タンパク質、ペプチド、核酸およびその他の荷電生体分子の精製において最も頻繁に使用されている技術の一つであり、高い分解性および群分離性と共に高い負荷能力を提供する。この技術は、それらの電荷特性に関してごく小さな違いしか有さない分子種、例えば1つの荷電アミノ酸が相違する2つのタンパク質を分離することができる。これらの特徴が、IEXを、精製プロトコルにおける捕捉、中間精製または洗練工程に非常に適したものにしており、この技術はマイクロスケールの精製および分析から数キログラムの生産物の精製まで使用される。イオン交換クロマトグラフィーは、（移動相の組成に依存して）それらの正味電荷にしたがいタンパク質を分離する。移動相のpHまたはイオン濃度を調節することによって、様々なタンパク質分子を分離することができる。しかし、その前提として、関心対象のタンパク質（例えば、治療用抗体）がIEX手順の間のpHまたはイオン強度の上記変化に耐えなければならない。このため、抗体がIEXの実施に必要とされる非生理学的pH下でより高い耐性を示すほど、負荷されたタンパク質の総量に対してより多くの抗体がIEXカラムから回収／溶出できる。

【0017】

上記のように、BCMAは癌および／または自己免疫障害に抗する治療に利用されているが、それでもなお、効率的に生産および精製できるそのような医学的状態の処置に対するさらなる選択肢を利用可能にする必要がある。

【0018】

したがって、本明細書に開示される結合分子の形態で、後者の技術的問題の解決のためでもある手段および方法が、本明細書に提供される。

【0019】

したがって、さらなる局面において、本発明は、第1および第2の結合ドメインを含む少なくとも二重特異性である結合分子に関し、ここで、

(a) 第1の結合ドメインは、本明細書で定義されるBCMAのエピトープクラスターに結合でき；そして

(b) 第2の結合ドメインは、T細胞CD3受容体複合体に結合でき、そしてここで、該結合分子は、pH 5.5下でのカチオン交換カラムから回収される全ピークの総面積に対する 50% の主ピークAUC（曲線下面積）率によって特徴づけられる。好ましい態様において、該結合分子は、以下の実験設定にしたがうpH 5.5下でのカチオン交換カラムから回収される全ピークの総面積に対する 50% の主ピークAUC（曲線下面積）率によって特徴づけられる：

(i) 固相ビーズに連結されたスルホプロピル基を有する1 mlのカチオン交換カラムを、水酸化ナトリウム水溶液でpH 5.5に調節された20 mMリン酸二水素ナトリウムおよび30 mM 塩化ナトリウムからなる緩衝液で平衡化し；

(ii) 50 µgの結合分子（好ましくは、単量体）を、水酸化ナトリウム水溶液でpH 5.5に調節された20 mMリン酸二水素ナトリウムおよび30 mM 塩化ナトリウムからなる希釈緩衝液により、50 mlの最終容積まで希釈し；

(iii) 40 mlの希釈されたタンパク質溶液をカラムに適用し、その後に任意で水酸化ナトリウム水溶液でpH 5.5に調節された20 mMリン酸二水素ナトリウムおよび30 mM 塩化ナトリウムからなる緩衝液による洗浄工程を行い；

(iv) 水酸化ナトリウムでpH 5.5に調節された20 mM NaH₂PO₄および1000 mM NaClからなる緩衝液で溶出させる（溶出は、好ましくは、200カラム容積に対応する総容積にわたる、ゼロから100%溶出緩衝液への一定増加率の勾配によって行う）。

この方法は、以下に例示される。

【0020】

固相ビーズに連結されたスルホプロピル基を有する1 mlのYMC製BioPro SPカラム（YMC Europe GmbH, Dinslaken-Germany）を、Akta Micro FPLC（GE Healthcare）デバイスに接続した。カラムの平衡化のために、水酸化ナトリウム水溶液でpH 5.5に調節された20 mM

10

20

30

40

50

リン酸二水素ナトリウムおよび30 mM塩化ナトリウムからなる試料希釀・洗浄緩衝液を使用した。

【0021】

溶出のために、水酸化ナトリウムでpH 5.5に調節された20 mM NaH₂PO₄および1000 mM NaClからなる緩衝液を使用した。

50 µgのBCMA/CD3 二重特異性抗体単量体を、希釀緩衝液で50mLの最終容積まで希釀し、これを同じ試料容積のGE Amersham Superloopに移した。

【0022】

カラムの平衡化の後、40 mLの希釀されたタンパク質溶液をカラムに適用し、その後に洗浄工程を行った。

10

【0023】

溶出は、200カラム容積に対応する総容積にわたる、ゼロから100%の溶出緩衝液を用いる一定増加率の勾配によって行った。泳動全体を、280 (青色線) および254 nm (赤色線) の光吸収でモニタリングした。

【0024】

カラムマトリックスからのタンパク質回収率の計算のために、50 µgの量の単量体BCMA/CD3 二重特異性抗体を、カラムが挿入されていないAkta Micro Deviceに適用した。得られたピーク面積を決定し、これを分析実施の際に測定されたピーク面積との比較のための100%参照として使用した。

【0025】

20

上記のIEX法を適用した際、14個の本発明の代表的な結合分子に関して以下の結果を得ることができた。

【0026】

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | 主ピークのAUC [%] | 回収率 [%] |
|---------------------|-----------------|------------|
| BCMA-54 | 67 | 49.4 |
| BCMA-53 | 52 | 49.4 |
| BCMA-83 | 89 | 70.2 |
| BCMA-62 | 89 | 67.0 |
| BCMA-5 | 92 | 65.4 |
| BCMA-98 | 93 | 73.4 |
| BCMA-71 | 89 | 70.2 |
| BCMA-34 | 91 | 71.8 |
| BCMA-74 | 79 | 65.4 |
| BCMA-20 | 83 | 71.8 |
| BCMA-90 | 86 | 76.6 |
| BCMA-91 | 84 | 59.0 |
| BCMA-30 | 91 | 76.6 |
| BCMA-50 | 92 | 78.1 |

【0027】

したがって、好ましい態様において、結合分子は：

(a) (i) SEQ ID No 41～46で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 47および48で定義されるVHおよび/もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 49で定義されるscFv、またはSEQ ID No 50で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

50

(b) (i) SEQ ID No 191～196で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 197および198で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 199で定義されるscFv、またはSEQ ID No 200で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(c) (i) SEQ ID No 291～296で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 297および298で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 299で定義されるscFv、またはSEQ ID No 300で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(d) (i) SEQ ID No 331～336で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 337および338で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 339で定義されるscFv、またはSEQ ID No 340で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(e) (i) SEQ ID No 491～496で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 497および498で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 499で定義されるscFv、またはSEQ ID No 500で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(f) (i) SEQ ID No 611～616で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 617および618で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 619で定義されるscFv、またはSEQ ID No 620で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(g) (i) SEQ ID No 701～706で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 707および708で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 709で定義されるscFv、またはSEQ ID No 710で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(h) (i) SEQ ID No 731～736で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 737および738で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 739で定義されるscFv、またはSEQ ID No 740で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(j) (i) SEQ ID No 821～826で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 827および828で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 829で定義されるscFv、またはSEQ ID No 830で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(k) (i) SEQ ID No 891～896で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 897および898で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 899で定義されるscFv、またはSEQ ID No 900で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；

(l) (i) SEQ ID No 901～906で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 907および908で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 909で定義されるscFv、またはSEQ ID No 910で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体；ならびに／または

(m) (i) SEQ ID No 971～976で定義されるCDR、または(ii) SEQ ID No 977および978で定義されるVHおよび／もしくはVL、または(iii) SEQ ID No 979で定義されるscFv、またはSEQ ID No 980で定義される二重特異性BCMA/CD3結合体、
を含む。

【0028】

特定の好ましい態様において、結合分子は、SEQ ID No:50、200、300、340、500、620、710、740、830、900、910または980によって表されるポリペプチドを含むまたはそれからなる。

【0029】

さらなる好ましい態様において、結合分子はさらに、少なくとも1つのタンパク質精製タグ、例えばGSTタグ、FLAGタグ、ポリヒスチジンタグ等を含む。ポリヒスチジンタグが好ましい。ポリヒスチジンタグは典型的に、5または6ヒスチジン残基長であるが、それより長い場合もある。タンパク質精製タグは、結合分子のカルボキシまたはアミノ末端に存在し得る。（例えば、SEQ ID Noの形態で）本明細書に開示されるすべての具体的な結合分子を含む本発明の結合分子は、好ましい態様において、6ヒスチジン残基長を含むまたはそれからなる少なくとも1つのHisタグを含む。Hisタグが6ヒスチジン残基長でありかつ本発明の結合分子のC末端に位置することがさらに好ましい。したがって、本発明の特に好ましい態様において、本発明の結合分子は、SEQ ID No:50、200、300、340、500、620、710、740、830、900、910または980によって表されるポリペプチドおよび追加でそのC末端に位置するヘキサヒスチジンタグ(HHHHHH)を含むまたはそれらからなる。タンパク

10

20

30

40

50

質精製タグ (Hisタグがより好ましく、ヘキサHisタグが最も好ましい) が、ペプチド結合を介して (好ましくは、SEQ ID No:50、200、300、340、500、620、710、740、830、900、910または980からなるまたはそれらを含む) 本発明の結合分子のC末端に連結されることも好ましい。

[0 0 3 0]

やや好ましい態様において、本発明の結合分子は、SEQ ID No: 540または530および追加でそのC末端に位置しあつペプチド結合を通じてそれに連結されているヘキサヒスチジンタグ (HHHHHH) を含むまたはそれらからなる。

[0 0 3 1]

さらに好ましい態様において、Hisタグが好ましく、C末端のヘキサHisタグがより好ましい、上記のタンパク質精製タグを含む結合分子は、本明細書で定義される宿主細胞において生産される。CHOが、特に好ましい宿主細胞である。本発明の結合分子が、(i) 2.9より低い、100 μg/ml 溶液中で7日間後の、または(ii) 3.5より低い、250 μg/ml 溶液中で7日間後の、%二量体変換率によって特徴づけられることも好ましい。10

[本発明1001]

第1および第2の結合ドメインを含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって、
(a) 第1の結合ドメインがBCMAのエピトープクラスター3およびエピトープクラスター4に
結合でき、かつ、

(b) 第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合でき、

ここで、BCMAのエピトープクラスター3がSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基
24～41に対応し、BCMAのエピトープクラスター4がSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミ
ノ酸残基42～54に対応する、結合分子。

[本発明1002]

第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 1015に示されるBCMAのキメラ細胞外ドメインに結合
できない、本発明1001の結合分子。

[本発明1003]

第1の結合ドメインが、マカクBCMAにさらに結合できる、本発明1001または1002の結合
分子。

[本発明1004]

第2の結合ドメインが、CD3イプシロンに結合できる、前記本発明のいずれかの結合分子
。

[本発明1005]

第2の結合ドメインが、ヒトCD3およびマカクCD3に結合できる、前記本発明のいずれか
の結合分子。

[本発明1006]

第1および/または第2の結合ドメインが抗体由来である、前記本発明のいずれかの結合
分子。

[本発明1007]

(scFv)₂、(単一ドメインmAb)₂、scFv-単一ドメインmAb、ダイアボディおよびこれらの
オリゴマーからなる群より選択される、本発明1006の結合分子。

[本発明1008]

第1の結合ドメインが、

(a) SEQ ID NO: 231に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 232に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
233に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 234に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 235に示されるCDR
-L2およびSEQ ID NO: 236に示されるCDR-L3；

(b) SEQ ID NO: 241に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 242に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
243に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 244に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 245に示されるCDR
-L2およびSEQ ID NO: 246に示されるCDR-L3；

(c) SEQ ID NO: 251に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 252に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
253に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 254に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 255に示されるCDR

1020304050

503に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 504に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 505に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 506に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む、前記本発明のいずれかの結合分子。

[本発明1009]

第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 237、SEQ ID NO: 247、SEQ ID NO: 257、SEQ ID NO: 267、SEQ ID NO: 277、SEQ ID NO: 287、SEQ ID NO: 297、SEQ ID NO: 307、SEQ ID NO: 397、SEQ ID NO: 407、SEQ ID NO: 417、SEQ ID NO: 427、SEQ ID NO: 437、SEQ ID NO: 447、SEQ ID NO: 457、SEQ ID NO: 467、SEQ ID NO: 477、SEQ ID NO: 487、SEQ ID NO: 497およびSEQ ID NO: 507に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む、
前記本発明のいずれかの結合分子。 10

[本発明1010]

第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 238、SEQ ID NO: 248、SEQ ID NO: 258、SEQ ID NO: 268、SEQ ID NO: 278、SEQ ID NO: 288、SEQ ID NO: 298、SEQ ID NO: 308、SEQ ID NO: 398、SEQ ID NO: 408、SEQ ID NO: 418、SEQ ID NO: 428、SEQ ID NO: 438、SEQ ID NO: 448、SEQ ID NO: 458、SEQ ID NO: 468、SEQ ID NO: 478、SEQ ID NO: 488、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 508に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む、
前記本発明のいずれかの結合分子。 20

[本発明1011]

第1の結合ドメインが、
 (a) SEQ ID NO: 237に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 238に示されるVL領域；
 (b) SEQ ID NO: 247に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 248に示されるVL領域；
 (c) SEQ ID NO: 257に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 258に示されるVL領域；
 (d) SEQ ID NO: 267に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 268に示されるVL領域；
 (e) SEQ ID NO: 277に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 278に示されるVL領域；
 (f) SEQ ID NO: 287に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 288に示されるVL領域；
 (g) SEQ ID NO: 297に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 298に示されるVL領域；
 (h) SEQ ID NO: 307に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 308に示されるVL領域；
 (i) SEQ ID NO: 397に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 398に示されるVL領域；
 (k) SEQ ID NO: 407に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 408に示されるVL領域；
 (l) SEQ ID NO: 417に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 418に示されるVL領域；
 (m) SEQ ID NO: 427に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 428に示されるVL領域；
 (n) SEQ ID NO: 437に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 438に示されるVL領域；
 (o) SEQ ID NO: 447に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 448に示されるVL領域；
 (p) SEQ ID NO: 457に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 458に示されるVL領域；
 (q) SEQ ID NO: 467に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 468に示されるVL領域；
 (r) SEQ ID NO: 477に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 478に示されるVL領域；
 (s) SEQ ID NO: 487に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 488に示されるVL領域；
 (t) SEQ ID NO: 497に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 498に示されるVL領域；ならびに
40

(u) SEQ ID NO: 507に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 508に示されるVL領域

からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む、前記本発明のいずれかの結合分子。
。

[本発明1012]

第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 239、SEQ ID NO: 249、SEQ ID NO: 259、SEQ ID NO: 269、SEQ ID NO: 279、SEQ ID NO: 289、SEQ ID NO: 299、SEQ ID NO: 309、SEQ ID NO: 399、SEQ ID NO: 409、SEQ ID NO: 419、SEQ ID NO: 429、SEQ ID NO: 439、SEQ ID NO: 449、SEQ ID NO: 459、SEQ ID NO: 469、SEQ ID NO: 479、SEQ ID NO: 489、SEQ ID NO: 499およびSEQ ID NO: 509からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1010の結合分子。 50

[本発明1013]

SEQ ID NO: 300またはSEQ ID NO: 500に示されるアミノ酸配列を有する、本発明1001～1007のいずれかの結合分子。

[本発明1014]

本発明1001～1013のいずれかの結合分子をコードする、核酸配列。

[本発明1015]

本発明1014の核酸配列を含む、ベクター。

[本発明1016]

本発明1014の核酸配列または本発明1015のベクターで形質転換またはトランスフェクトされた、宿主細胞。

10

[本発明1017]

本発明1001～1013のいずれかの結合分子の発現を可能にする条件下で本発明1016の宿主細胞を培養する工程、および、産生された結合分子を培養物から回収する工程を含む、本発明1001～1013のいずれかの結合分子の製造プロセス。

[本発明1018]

本発明1001～1013のいずれかの結合分子または本発明1017のプロセスによって製造された結合分子を含む、薬学的組成物。

[本発明1019]

形質細胞障害、BCMA発現と相関する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の予防、処置または寛解において使用するための、本発明1001～1013のいずれかの結合分子または本発明1017のプロセスによって製造された結合分子。

20

[本発明1020]

形質細胞障害、BCMA発現と相関する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の処置または寛解のための方法であって、それを必要とする対象に本発明1001～1013のいずれかの結合分子または本発明1017のプロセスによって製造された結合分子を投与する工程を含む、方法。

[本発明1021]

形質細胞障害が、多発性骨髄腫、形質細胞腫、形質細胞性白血病、マクログロブリン血症、アミロイドーシス、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性骨形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローニンググロブリン血症、およびくすぶり型多発性骨髄腫からなる群より選択される、本発明1020の方法。

30

[本発明1022]

自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデスである、本発明1020の方法。

[本発明1023]

本発明1001～1013のいずれかの結合分子、本発明1014の核酸分子、本発明1015のベクター、および／または本発明1016の宿主細胞を含む、キット。

[本発明1024]

BCMAに結合できる結合分子、好ましくは抗体の生成のための、BCMAのエピトープクラスター3およびエピトープクラスター4の使用であって、ここで、BCMAのエピトープクラスター3がSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基24～41に対応し、BCMAのエピトープクラスター4がSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基42～54に対応する、使用。

40

[本発明1025]

BCMAに結合できる抗体、好ましくは結合分子を生成する方法であって、

(a) BCMAのエピトープクラスター3およびエピトープクラスター4を含むポリペプチドで動物を免疫する工程であって、BCMAのエピトープクラスター3がSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基24～41に対応し、BCMAのエピトープクラスター4がSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基42～54に対応する、工程、

(b) 該抗体を得る工程、ならびに

(c) 任意で、該抗体を、ヒトBCMAおよび好ましくはT細胞CD3受容体複合体に結合できる結合分子に変換する工程

50

を含む、方法。

【発明を実施するための形態】

【0032】

本明細書で使用される場合、単数形「1つの」、「ある」および「その」は、文脈が明らかにそうでないことを示していない限り、複数の参照を含むことに留意されなければならない。したがって、例えば、「1つの試薬」は、1つまたは複数のそのような異なる試薬を含み、「その方法」に対する言及は、本明細書に記載される方法を修正または置換することができる当業者に公知の等価な工程および方法に対する言及を含む。

【0033】

そうでないことが示されない限り、要素の系列の前に置かれる「少なくとも」という用語は、この系列のあらゆる要素に言及していると理解されるべきである。当業者は、慣用的以上の実験を用いようと、本明細書に記載される本発明の具体的な様の多くの等価物を認識するまたは確認することができる。そのような等価物は、本発明に含まれることが意図されている。

【0034】

「および／または」という用語は、本明細書のいずれの場所で使用される場合でも、「および」、「または」および「この用語によって接続される要素のすべてまたは任意の他の組み合わせ」の意味を含んでいる。

【0035】

本明細書で使用される「約」または「およそ」という用語は、示された値または範囲の±20%以内、好ましくは±15%以内、より好ましくは±10%以内、最も好ましくは±5%以内を意味する。

本明細書および添付の特許請求の範囲を通して、文脈がそうでないことを必要としない限り、「含む」という単語および「含んでいる」等の派生語は、言及されている整数値もしくは工程または整数値もしくは工程のグループを含むが、任意のその他の整数値もしくは工程または整数値もしくは工程のグループを排除しないことを暗に示すものと理解されるべきである。本明細書で使用される場合、「含む（comprising）」という用語は、「含む（containing）」もしくは「含む（including）」で、または本明細書で使用される場合「有する（having）」で置き換えられることがある。

本願で使用される場合、「からなる」は、請求項発明の要素の中で指定されていない任意の要素、工程または成分を排除する。本明細書で使用される場合、「から本質的になる」は、その請求項発明の基本的かつ新規の特徴に実質的に影響しない物質または工程を排除しない。

【0036】

本明細書の各例において、「含む」、「から本質的になる」および「からなる」という用語はいずれも、他の2つの用語のいずれかと置き換えられ得る。

【0037】

概説

エピトープクラスター1、2、3、4、5、6、7は、BCMAの細胞外ドメインに含まれる。「BCMA細胞外ドメイン」または「BCMA ECD」は、BCMAの膜貫通および細胞質ドメインを本質的に含まないBCMAの形態を表す。本発明のBCMAポリペプチドにおいて特定される膜貫通ドメインは、疎水性ドメインのタイプを特定する当技術分野で慣用的に用いられている基準にしたがい特定されることが当業者に理解されるであろう。膜貫通ドメインの正確な境界は異なり得るが、本明細書で具体的に言及されているドメインのいずれかの末端から約5アミノ酸以下であると考えるのが妥当である。好ましいBCMA ECDは、SEQ ID NO: 1007に示されている。好ましいマウスECDは、SEQ ID NO: 1008に示されている。

エピトープクラスター1は、ヒトBCMA細胞外ドメイン（SEQ ID NO: 1007）のアミノ酸1～7に対応し、エピトープクラスター2は、ヒトBCMA細胞外ドメイン（SEQ ID NO: 1007）のアミノ酸8～21に対応し、エピトープクラスター3は、ヒトBCMA細胞外ドメイン（SEQ ID NO: 1007）のアミノ酸24～41に対応し、エピトープクラスター4は、ヒトBCMA細胞外ドメ

10

20

30

40

50

イン (SEQ ID NO: 1007) のアミノ酸42~54に対応し、エピトープクラスター5は、ヒトBCMA細胞外ドメイン (SEQ ID NO: 1007) のアミノ酸22に対応し、エピトープクラスター6は、ヒトBCMA細胞外ドメイン (SEQ ID NO: 1007) のアミノ酸25に対応し、そしてエピトープクラスター7は、ヒトBCMA細胞外ドメイン (SEQ ID NO: 1007) のアミノ酸39に対応する。エピトープクラスター5~7が單一アミノ酸置換であることも想定されている。

【0038】

T細胞CD3受容体複合体は、タンパク質複合体であり、4つの別個の鎖から構成される。哺乳動物において、この複合体は、CD3 鎖、CD3 鎖および2つのCD3 (イプシロン) 鎖を含む。これらの鎖は、T細胞受容体 (TCR) および 鎖として公知の分子と会合し、リンパ球において活性化シグナルを生成する。

10

二重特異性分子によるT細胞の動員を通じた標的細胞のリダイレクト溶解では、細胞溶解シナプスの形成ならびにパーフォリンおよびグランザイムの送達が行われる。関係するT細胞は、連続的な標的細胞溶解を行うことができ、ペプチド抗原のプロセシングおよび提示またはクローニングT細胞の分化に干渉する免疫回避機構に影響されない；例えば、WO 2007/042261を参照のこと。

【0039】

本開示との関係で、「結合分子」という用語は、標的分子であるBCMAおよびCD3に（特異的に）結合できる、これらと相互作用できるまたはこれらを認識できる、任意の分子を示す。本発明にしたがい、結合分子は、好ましくはポリペプチドである。そのようなポリペプチドは、タンパク質部分および非タンパク質部分（例えば、化学リンカーまたは化学架橋剤、例えばグルタルアルデヒド）を含み得る。

20

結合分子は、1つまたは複数の結合ドメインが標的分子BCMAおよびCD3と結合／相互作用できるよう、言わば、それらの結合ドメインのスキヤホールドを提供する。例えば、そのようなスキヤホールドは、プロテインA、特にそのZドメイン（アフィボディ）、ImmE7（免疫タンパク質）、BPTI/APPI（Kunitzドメイン）、Ras結合タンパク質AF-6（PDZドメイン）、カリブドトキシン（サソリ毒）、CTLA-4、Min-23（ノッチン）、リポカリン（アンチカリン）、ネオカルジノスタチン、フィブロネクチンドメイン、アンキリンコンセンサス反復ドメインまたはチオレドキシンによって提供され得る（Skerra, Curr. Opin. Biotechnol. 18, 295-304 (2005); Hosse et al., Protein Sci. 15, 14-27 (2006); Nicaise et al., Protein Sci. 13, 1882-1891 (2004); Nygren and Uhlen, Curr. Opin. Struct. Biol. 7, 463-469 (1997)）。好ましい結合分子は、抗体である。

30

本発明の結合分子は、標的分子BCMAおよびCD3に結合するその機能に加えて、さらなる機能を有することも想定されている。この形式では、結合分子は、BCMAへの結合を通じて形質細胞を標的化し、CD3への結合を通じて細胞毒性T細胞の活性化を媒介し、そしてさらなる機能、例えば、NK細胞等のエフェクター細胞の動員を通じた完全機能Fc定常ドメイン媒介抗体依存的細胞毒性、標識（蛍光等）、治療剤、例えば毒素または放射性核種、および／または血清半減期を延長する手段等、を提供する、3機能性または多機能性の結合分子である。

【0040】

本明細書で使用される「二重特異性」という用語は、結合分子が少なくとも第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインが1つの抗原または標的に結合でき、第2の結合ドメインが別の抗原または標的に結合できることを表す。本発明の「結合分子」はまた、多重特異性結合分子、例えば、3つの結合ドメインを含む三重特異性結合分子を含む。

40

結合分子は、既存の（モノクローナル）抗体由来のCDR配列の、スキヤホールド、例えば本明細書に開示されるスキヤホールドへの移植による以外にも、ファージディスプレイまたはライブラリスクリーニング法によって製造される（またはそれらによって入手可能である）ことが想定されている。

【0041】

「結合ドメイン」という用語は、本発明との関係で、標的分子BCMAおよびCD3上の所定

50

の標的エピトープまたは所定の標的部位に特異的に結合／相互作用することができるドメインを特徴づける。

結合ドメインは、結合ドメインドナー、例えば、抗体、プロテインA、IgE Fc受容体（免疫タンパク質）、BPT1/APPI（Kunitzドメイン）、Ras結合タンパク質AF-6（PDZドメイン）、カリブドトキシン（サソリ毒）、CTLA-4、Min-23（ノッチン）、リポカリン（アンチカリン）、ネオカルジノスタチン、フィブロネクチンドメイン、アンキリンコンセンサス反復ドメインまたはチオレドキシンから得ることができる（Skerra, Curr. Opin. Biotechnol. 18, 295-304 (2005); Hosse et al., Protein Sci. 15, 14-27 (2006); Nicaise et al., Protein Sci. 13, 1882-1891 (2004); Nygren and Uhlen, Curr. Opin. Struc. Biol. 7, 463-469 (1997)）。好ましい結合ドメインは、抗体から得られる。本発明の結合ドメインは、標的分子BCMAおよびCD3上の所定の標的エピトープまたは所定の標的部位への結合／相互作用に必要となる上記の結合ドメインのいずれかの少なくとも一部分を含むことが想定されている。10

【0042】

上記の結合ドメインドナーの結合ドメインは、それぞれの標的への結合を担うこれらのドナーの一部分によって、すなわち、その一部分が結合ドメインドナーから除去されたときにそのドナーがその結合能力を喪失することによって特徴づけられることが想定されている。「喪失」は、結合性のドナーと比較してその結合能力が少なくとも50%減少することを意味する。これらの結合部位をマッピングする方法は当技術分野で周知であり、したがって結合ドメインドナーの結合部位を位置決め／マッピングし、それによってそれぞれの結合ドメインドナーから結合ドメインを「得る」ことは当業者の標準的な知識の範囲内である。20

【0043】

「エピトープ」という用語は、結合ドメイン、例えば抗体もしくは免疫グロブリンまたは抗体もしくは免疫グロブリンの誘導体もしくはフラグメント、が特異的に結合する抗原上の部位を表す。「エピトープ」は抗原性であり、したがってエピトープという用語は本明細書において「抗原性構造」または「抗原性決定基」を表すこともある。したがって、結合ドメインは、「抗原相互作用部位」である。この結合／相互作用はまた、「特異的認識」を定義することが理解されている。1つの例において、標的分子BCMAおよびCD3上の所定の標的エピトープまたは所定の標的部位に（特異的に）結合／相互作用する結合ドメインは抗体または免疫グロブリンであり、そして結合ドメインは抗体または免疫グロブリンのVHおよび／またはVL領域である。「エピトープ」は、連続アミノ酸またはタンパク質の3次元折り畳みによって近接することになる非連続アミノ酸の両方によって形成され得る。30

【0044】

「直線状エピトープ」は、アミノ酸の1次配列が認識されるエピトープを含んでいるエピトープである。直線状エピトープは、典型的に、特有の配列内に、少なくとも3つまたは少なくとも4つ、およびより一般には少なくとも5つまたは少なくとも6つまたは少なくとも7つ、例えば約8～約10のアミノ酸を含む。

【0045】

「立体構造エピトープ」は、直線状エピトープに対して、エピトープを含むアミノ酸の1次配列が、認識されるエピトープの唯一の定義要素ではないエピトープ（例えば、アミノ酸の1次配列が必ずしも結合ドメインによって認識されないエピトープ）である。典型的に、立体構造エピトープは、直線状エピトープよりも多数のアミノ酸を含む。立体構造エピトープの認識に関して、結合ドメインは、抗原、好ましくはペプチドもしくはタンパク質またはそれらのフラグメント、の3次元構造を認識する（本発明においては、結合ドメインの1つに対する抗原がBCMAタンパク質内に含まれている）。例えば、タンパク質分子が折り畳まれ3次元構造が形成される場合、立体構造エピトープを形成する特定のアミノ酸および／またはポリペプチド骨格は近接した状態になり、それによって抗体がそのエピトープを認識できるようになる。エピトープの立体構造を決定する方法は、X線結晶解4050

析、2次元核磁気共鳴（2D-NMR）分光分析および部位特異的スピニラベルおよび電子常磁性共鳴（EPR）分光分析を含むがこれらに限定されない。さらに、提供される実施例には、所定の結合ドメインが所定のタンパク質、特にBCMA、の1つまたは複数のエピトープクラスターに結合するかどうかを試験するためのさらなる方法が記載されている。

【0046】

本明細書で使用される場合、「エピトープクラスター」という用語は、所定の連続する抗原ストレッチの中に存在するエピトープの全体を示す。エピトープクラスターは、1つ、2つまたはそれ以上のエピトープを含み得る。本発明との関係でBCMAの細胞外ドメインにおいて定義されたエピトープクラスターが上記されており、かつ図1に示されている。

【0047】

「結合する（ことができる）」、「特異的に認識する」、「向けられる」および「反応する」という用語は、本発明にしたがい、結合ドメインが、エピトープの1つまたは複数、好ましくは少なくとも2つ、より好ましくは少なくとも3つ、最も好ましくは少なくとも4つのアミノ酸と特異的に相互作用できることを意味する。

【0048】

本明細書で使用される場合、「特異的に相互作用する」または「特異的に結合する」という用語は、結合ドメインが特定のタンパク質または抗原に対して感知できる親和性を示し、そして通常、BCMAまたはCD3以外のタンパク質または抗原に対して有意な反応性を示さないことを意味する。「感知できる親和性」は、約 10^{-6} M (KD) またはそれより強い親和性の結合を含む。好ましくは、結合は、結合親和性が約 $10^{-12} \sim 10^{-8}$ M、 $10^{-12} \sim 10^{-9}$ M、 $10^{-12} \sim 10^{-10}$ M、 $10^{-11} \sim 10^{-8}$ M、好ましくは約 $10^{-11} \sim 10^{-9}$ Mである場合に特異的とみなされる。結合ドメインが標的に特異的に反応または結合するかどうかは、特に、標的タンパク質または抗原に対するその結合ドメインの反応を、BCMAまたはCD3以外のタンパク質または抗原に対するその結合ドメインの反応と比較することによって、容易に試験することができる。好ましくは、本発明の結合ドメインは、BCMAまたはCD3以外のタンパク質または抗原に本質的に結合しないまたは結合できない（すなわち、第1の結合ドメインは、BCMA以外のタンパク質に結合できず、第2の結合ドメインは、CD3以外のタンパク質に結合できない）。

特異的な結合は、結合ドメインおよび抗原のアミノ酸配列内の特定のモチーフによってもたらされると考えられる。したがって、結合は、それらの1次、2次および／または3次構造の結果としてならびにこれらの構造の2次の修飾の結果として達成される。抗原相互作用部位とその特異的抗原との特異的相互作用は、抗原に対する該部位の単なる結合をもたらし得る。さらに、抗原相互作用部位とその特異的抗原との特異的相互作用は、代替的にまたは付加的に、例えば抗原の立体構造の変化の誘導、抗原のオリゴマー化等により、シグナルを開始させ得る。

【0049】

「本質的に結合しない」または「結合できない」という用語は、本発明の結合ドメインが、BCMAまたはCD3以外の別のタンパク質または抗原に結合しない、すなわち、BCMAまたはCD3のそれぞれに対する結合を100%として、BCMAまたはCD3以外のタンパク質または抗原に対して30%超、好ましくは20%超、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、7%、6%または5%超の反応性を示さないことを意味する。

【0050】

「タンパク質」（通常30未満のアミノ酸を有する、そのフラグメント、好ましくは生物学的に活性なフラグメント、およびペプチドを含む）は、共有結合的ペプチド結合を通じて相互に連結された（それによってアミノ酸の鎖を形成する）1つまたは複数のアミノ酸を含む。本明細書で使用される「ポリペプチド」という用語は、30超のアミノ酸からなる分子のグループを表す。ポリペプチドはさらに、多量体、例えば2量体、3量体およびより高次のオリゴマーを形成し得る、すなわち、2つ以上のポリペプチド分子からなり得る。そのような2量体、3量体等を形成するポリペプチド分子は、同一または非同一であり得る。その結果、そのような多量体の対応する高次構造は、ホモまたはヘテロ2量体、ホモま

10

20

30

40

50

たはヘテロ3量体等と称される。ヘテロ多量体の例は、その天然形態において、2つの同一の軽ポリペプチド鎖および2つの同一の重ポリペプチド鎖からなる抗体分子である。「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語はまた、例えばグリコシル化、アセチル化、リン酸化等のような翻訳後修飾による修飾がなされた天然修飾ポリペプチド／タンパク質を表す。本明細書における「ポリペプチド」はまた、化学修飾、例えばペグ化されたものであり得る。そのような修飾は、当技術分野で周知である。

【0051】

「アミノ酸」または「アミノ酸残基」という用語は、典型的に、その当技術分野で知られている定義を有するアミノ酸、例えば、アラニン (AlaまたはA)；アルギニン (ArgまたはR)；アスパラギン (AsnまたはN)；アスパラギン酸 (AspまたはD)；システイン (CysまたはC)；グルタミン (GlnまたはQ)；グルタミン酸 (GluまたはE)；グリシン (GlyまたはG)；ヒスチジン (HisまたはH)；イソロイシン (IeまたはI)；ロイシン (LeuまたはL)；リジン (LysまたはK)；メチオニン (MetまたはM)；フェニルアラニン (PheまたはF)；プロリン (ProまたはP)；セリン (SerまたはS)；スレオニン (ThrまたはT)；トリプトファン (TrpまたはW)；チロシン (TyrまたはY)；およびバリン (ValまたはV)からなる群より選択されるアミノ酸を表すが、望ましい場合は修飾、合成または希少アミノ酸も使用され得る。一般に、アミノ酸は、非極性側鎖（例えば、Ala、Cys、He、Leu、Met、Phe、Pro、Val）；負荷電側鎖（例えば、Asp、Glu）；正荷電側鎖（例えば、Arg、His、Lys）；または非荷電極性側鎖（例えば、Asn、Cys、Gln、Gly、His、Met、Phe、Ser、Thr、TrpおよびTyr）を有する点でグループ化され得る。10

【0052】

「抗体」という用語の定義は、モノクローナル、キメラ、単鎖、ヒト化およびヒト抗体等の態様を含む。全長抗体に加えて、この定義はまた、特にFabフラグメントのような、抗体誘導体および抗体フラグメントを含む。抗体フラグメントまたは誘導体はさらに、F(ab')₂、Fv、scFvフラグメントまたは单ードメイン抗体、例えばドメイン抗体またはナノボディ、他のV領域またはドメインから独立して抗原またはエピトープに特異的に結合するVHH、VHまたはVLであり得る唯一の可変ドメインを含む单一可変ドメイン抗体または免疫グロブリン单一可変ドメインを含む；例えば、Harlow and Lane (1988) and (1999), loc. cit.; Kontermann and Dubel, Antibody Engineering, Springer, 2nd ed. 2010およびLittle, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press 2009を参照のこと。この用語はまた、ダイアボディ (diabodies) またはDual-Affinity Re-Targeting (DART) 抗体を含む。さらに、(二重特異性) 单鎖ダイアボディ、タンデムダイアボディ (Tandab)、以下の構造：(VH-VL-CH3)₂、(scFv-CH3)₂または(scFv-CH3-scFv)₂によって例示される「ミニボディ」、「Fc DART」および「IgG DART」、マルチボディ、例えばトリアボディ (triabodies) が想定されている。30

免疫グロブリン单一可変ドメインは、単離された抗体单一可変ドメインポリペプチドだけでなく、抗体单一可変ドメインポリペプチド配列の1つまたは複数の单量体を含むより大きなポリペプチドも含む。

そのような抗体および/またはフラグメントの製造に関しては様々な手順が当技術分野で公知であり、かつ使用され得る。したがって、(抗体) 誘導体は、ペプチド模倣体によつて製造され得る。さらに、单鎖抗体の製造に関して記載された技術（特に、米国特許第4,946,778号、Kontermann and Dubel (2010), loc. cit. およびLittle (2009), loc. cit. を参照のこと）を、選択されたポリペプチドに特異的な单鎖抗体を製造するために適合させることができる。また、トランスジェニック動物が、本発明のポリペプチドおよび融合タンパク質に特異的なヒト化抗体を発現させるために使用され得る。モノクローナル抗体の調製については、継続的な細胞株の培養によって產生される抗体を提供する任意の技術が使用され得る。そのような技術の例は、ハイブリドーマ技術 (Kohler and Milstein Nature 256 (1975), 495-497)、トリオーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術 (Kozbor, Immunology Today 4 (1983), 72) およびヒトモノクローナル抗体を製造するEBVハイブリドーマ技術 (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. L40

iss, Inc. (1985), 77-96) を含む。BIAcoreシステムで用いられる表面プラズモン共鳴は、標的ポリペプチド、例えばCD3イotaシロンのエピトープに結合するファージ抗体の効率を高めるために使用され得る (Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105 ; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13)。本発明との関係で、「抗体」という用語は、本明細書の以下に記載される宿主において発現され得る抗体構築物、例えば、特にウイルスまたはプラスミドベクターを通じてトランスフェクトおよび／または形質導入され得る抗体構築物を含むことも想定されている。

さらに、本明細書で用いられる「抗体」という用語はまた、記載されている抗体と同じ特異性を示す本明細書に記載される抗体の誘導体または変種に関する。「抗体変種」の例は、非ヒト抗体のヒト化変種、「親和性成熟」抗体（例えば、Hawkins et al., J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) およびLowman et al., Biochemistry 30, 10832-10837 (1991) を参照のこと）およびエフェクター機能が変更された抗体変異体（例えば、米国特許第5,648,260号、Kontermann and Dubel (2010), loc. cit. およびLittle (2009), loc. cit. を参照のこと）を含む。

抗体を作製する1つの例示的な方法は、タンパク質発現ライプラリ、例えばファージまたはリボソームディプレライライプラリ、のスクリーニングを含む。ファージディスプレイは、例えば、Ladnerらの米国特許第5,223,409号；Smith (1985) Science 228: 1315-1317 ; Clackson et al. (1991) Nature, 352: 624-628に記載されている。

ディスプレイライライプラリの使用に加えて、対象抗原は、非ヒト動物、例えばげっ歯類、例えばマウス、ハムスターまたはラットを免疫するために使用され得る。1つの態様において、非ヒト動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子の少なくとも一部分を含む。例えば、マウス抗体産生能を欠失しているマウス系統をヒトIg遺伝子座の大フラグメントを用いて改変することが可能である。ハイブリドーマ技術を用いて、所望の特異性を有する遺伝子由来の抗原特異的モノクローナル抗体が產生および選択され得る。例えば、XENOMOUSE (商標) 、Green et al. (1994) Nature Genetics 7: 13-21、US 2003-0070185、W096/34096 およびW096/33735を参照のこと。

抗体またはそのフラグメントはまた、ヒトT細胞エピトープの特異的欠失またはWO 98/52976およびWO 00/34317に開示される方法による「非免疫化」によって修飾され得る。簡潔に説明すると、抗体の重鎖および軽鎖可変ドメインが、MHCクラスIIに結合するペプチドについて分析され得；これらのペプチドが、(WO 98/52976およびWO 00/34317で定義されるように)潜在的T細胞エピトープである。WO 98/52976およびWO 00/34317に記載されるように、潜在的T細胞エピトープの検出のために、「ペプチドスレッディング (peptide threading)」と呼ばれるコンピューターモデリングアプローチが適用され得、加えて、ヒトMHCクラスII結合ペプチドのデータベースが、VHおよびVL配列に存在するモチーフについて検索され得る。これらのモチーフは、18個の主要MHCクラスII DRアロタイプのいずれかに結合し、したがって、潜在的T細胞エピトープを構成する。検出された潜在的T細胞エピトープは、可変ドメイン内の少數のアミノ酸残基を置換することによってまたは好ましくは單一アミノ酸置換によって除去され得る。典型的に、保存的置換が行われる。すべてではない多くの場合、ヒト生殖系列抗体配列における位置に一般的なアミノ酸が使用され得る。ヒト生殖系列配列は、例えば、Tomlinson, et al. (1992) J. Mol. Biol. 227: 776-798; Cook, G.P. et al. (1995) Immunol. Today Vol. 16(5): 237-242; およびTomlinson et al. (1995) EMBO J. 14: 4628-4638に開示されている。V BASEディレクトリは、(Tomlinson, LA. et al. MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UK によってコンパイルされた)ヒト免疫グロブリン可変領域配列の総合的なディレクトリを提供する。これらの配列は、例えばフレームワーク領域およびCDRのための、ヒト配列の供給源として、使用することができる。例えば米国特許第6,300,064号に記載されるような、コンセンサスヒトフレームワーク領域もまた使用することができる。

VHおよびVLの対は共同で1つの抗原結合部位を形成する。VHに最も近いCHドメインはCH1と呼ばれる。各L鎖は、1つの共有結合的ジスルフィド結合によってH鎖に連結され、2つのH鎖は、H鎖のアイソタイプに依存して、1つまたは複数のジスルフィド結合によって相互

10

20

30

40

50

に連結される。VHおよびVLドメインは、フレームワーク領域と呼ばれる4つの比較的保存された配列の領域（FR1、FR2、FR3およびFR4）からなり、これらが3つの超可変配列の領域（相補性決定領域、CDR）のスキヤホールドを形成する。CDRは、抗体と抗原の特異的相互作用を担う残基の大部分を含んでいる。CDRは、CDR1、CDR2およびCDR3と称される。したがって、重鎖のCDR要素はH1、H2およびH3と称され、軽鎖のCDR要素はL1、L2およびL3と称される。

【0053】

「可変」という用語は、それらの配列における可変性（variability）を示し、個々の抗体の特異性および結合親和性の決定に関与する、免疫グロブリンドメインの一部分（すなわち、「可変ドメイン」）を表す。可変性は、抗体の可変ドメイン全体に均一に分布しているのではなく；それは重鎖および軽鎖の各々の可変領域の部分ドメインに集中している。10

これらの部分ドメインは、「超可変」領域または「相補性決定領域」（CDR）と呼ばれる。可変ドメインのより保存された（非超可変）部分は、「フレームワーク」領域（FRM）と呼ばれる。天然に存在する重鎖および軽鎖の可変ドメインは各々、大部分がシート配置をとっている4つのFRM領域を含んでおり、これらが、ループ接続を形成し、いくつかの例ではシート構造の一部を形成する3つの超可変領域によって接続されている。各鎖の超可変領域は、FRMによって近接状態になってまとめられて保持されており、他の鎖の超可変領域と共に、抗原結合部位の形成に寄与している（Kabat et al., loc. cit. を参照のこと）。定常ドメインは、抗原結合に直接関与しないが、様々なエフェクター機能、20 例えれば抗体依存的細胞媒介細胞毒性および補体活性化、を示す。

【0054】

「超可変領域」という用語（「相補性決定領域」またはCDRとしても公知）は、本明細書で使用される場合、抗原結合部位を形成しあつ抗原特異性の主要決定基である、免疫グロブリンのV領域ドメイン内の（通常、極めて高い配列可変性を示す3つまたは4つの短い領域である）抗体のアミノ酸残基を表す。CDR残基を同定する方法は少なくとも2つ存在する：（1）種間配列可変性に基づくアプローチ（すなわち、Kabat et al., loc. cit.）；および（2）抗原・抗体複合体の結晶学研究に基づくアプローチ（Chothia C. et al., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)）。しかし、2つの残基同定技術が同一領域ではない重複する領域を定義する程度まで、それらを、ハイブリッドCDRを定義するために組み合わせることができる。しかし、一般に、CDR残基は、好ましくは、いわゆるKabat（番号付け）体系にしたがい同定される。30

【0055】

「抗原結合ドメイン」、「抗原結合フラグメント」および「抗体結合領域」という用語は、本明細書で使用される場合、抗体と抗原の間の特異的結合を担うアミノ酸を含む抗体分子の一部分を表す。抗体によって特異的に認識および結合される抗原の一部分は、本明細書上記のように「エピトープ」と称される。上記のように、抗原結合ドメインは、典型的に、抗体軽鎖可変領域（VL）および抗体重鎖可変領域（VH）を含み得るが；両方を含んでいかなければならないわけではない。例えば、Fdフラグメントは、2つのVH領域を有し、多くの場合、インタクトな抗原結合ドメインの抗原結合機能をある程度保持している。抗体の抗原結合フラグメントの例は、（1）VL、VH、CLおよびCH1ドメインを有する1価のフラグメントである、Fabフラグメント；（2）ヒンジ領域におけるジスルフィド架橋によって連結されている2つのFabフラグメントを有する2価のフラグメントである、F(ab')2フラグメント；（3）2つのVHおよびCH1ドメインを有する、Fdフラグメント；（4）抗体の1つのアームのVLおよびVHドメインを有する、Fvフラグメント、（5）VHドメインを有する、dAbフラグメント（Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546）；（6）単離された相補性決定領域（CDR）、ならびに（7）単鎖Fv（scFv）を含み、後者が好ましい（例えば、scFVライブラリ由来のもの）。Fvフラグメントの2つのドメインであるVLおよびVHは別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、組み換え法を用いて合成リンクによって接続し、VLおよびVH領域が対になり1価分子を形成する単一のタンパク質鎖（単鎖Fv（scFv）4050

として公知；例えば、Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85: 5879-5883 を参照のこと)として生成することができる。これらの抗体フラグメントは、当業者に公知の従来技術を用いて取得され、そしてそのフラグメントはインタクトな抗体と同じ様式で機能について評価される。

【 0 0 5 6 】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を表す、すなわち、その集団を構成している個々の抗体が、微量で存在し得る潜在的な自然変異および/または翻訳後修飾(例えば、異性化、アミド化)を除いて同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原部位に対して向けられている。さらに、典型的に異なる決定基(エピトープ)に対して向けられた異なる抗体を含む従前の(ポリクローナル)抗体調製物と対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して向けられている。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、それらが他の免疫グロブリンの混入していないハイブリドーマ培養物によって合成されるという利点がある。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均質な抗体集団から得られるという抗体の特徴を示しており、その抗体が任意の特定の方法によって製造されることを必要とするものと解釈されるべきではない。例えば、本発明にしたがい使用されるモノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature 256: 495 (1975)によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製され得、または、組み換えDNA法(例えば、米国特許第4,816,567号を参照のこと)によって作製され得る。「モノクローナル抗体」はまた、例えば、Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991)およびMarks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)に記載される技術を用いて、ファージ抗体ライブラリから単離され得る。10

本発明のモノクローナル抗体は、具体的に、重鎖および/または軽鎖の一部がある特定の種に由来するまたはある特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同であり、その鎖の残りの部分が別の種に由来するまたは別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同である、「ディスプレイライブラリ」抗体(免疫グロブリン)、ならびに、所望の生物学的活性を示す限り、そのような抗体のフラグメント、を含む(米国特許第4,816,567号; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984))。本明細書における関心対象のキメラ抗体は、非ヒト靈長類(例えば、旧世界ザル、類人猿等)由来の可変ドメイン抗原結合配列およびヒト定常領域配列を含む「靈長類化」抗体を含む。20

モノクローナル抗体は非ヒト動物から得ることができ、その後に、修飾された、例えばヒト化された、非免疫化(deimmunized)された、キメラ化されたものが、当技術分野で公知の組み換えDNA技術を用いて製造され得る。キメラ抗体を作製するための様々なアプローチが記載されている。例えば、Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A. 81: 6851, 1985; Takeda et al., Nature 314: 452, 1985, Cabillyらの米国特許第4,816,567号; Bossらの米国特許第4,816,397号; TanaguchiらのEP0171496; EP0173494、GB2177096を参照のこと。

非ヒト(例えば、マウス)抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小限の配列を含む、大部分がヒト配列の、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖またはそれらのフラグメント(例えば、Fv、Fab、Fab'、F(ab')2または抗体のその他の抗原結合部分配列)である。多くの場合、ヒト化抗体は、ヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)であるが、そのレシピエントの超可変領域(またはCDR)の残基が所望の特異性、親和性および能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)、例えばマウス、ラットまたはウサギ、の超可変領域の残基で置き換えられているものである。いくつかの例において、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域(FR)の残基が、対応する非ヒト残基で置き換えられる。さらに、本明細書で使用される「ヒト化抗体」はまた、レシピエント抗体またはドナー抗体のいずれにおいても見られない残基を含み得る。これらの修飾は、抗体の性能をさらに洗練および最適化するためになされる。ヒト化抗体はまた、必要に応じて、免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部分、典型的にはヒト免疫グロブリンのそれ、を含み4050

得る。さらなる詳細については、Jones et al., *Nature*, 321: 522-525 (1986); Reichmann et al., *Nature*, 332: 323-329 (1988); およびPresta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2: 593-596 (1992)を参照のこと。

ヒト化抗体はまた、例えば、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子を発現するが内因性のマウス免疫グロブリン重鎖および軽鎖遺伝子を発現できないトランスジェニックマウスを用いて、製造され得る。Winterは、本明細書に記載されるヒト化抗体の調製に使用され得る例示的なCDR移植法を記載している（米国特許第5,225,539号）。特定のヒト抗体のCDRのすべてが非ヒトCDRの少なくとも一部分で置き換えられ得、またはCDRのいくつかのみが非ヒトCDRで置き換えられ得る。既定の抗原に対するヒト化抗体の結合に必要となる数のCDRを置き換えることのみが必要とされる。

ヒト化抗体またはそのフラグメントは例えば、抗原結合に直接関与しないFv可変ドメインの配列をヒトFv可変ドメイン由来の等価な配列で置き換えることによって生成され得る。ヒト化抗体またはそのフラグメントを生成するための例示的な方法は、Morrison (1985) *Science* 229: 1202-1207によって；Oi et al. (1986) *BioTechniques* 4: 214によって；ならびにUS5,585,089; US5,693,761; US5,693,762; US5,859,205；およびUS6,407,213によって提供される。これら的方法は、重鎖または軽鎖の少なくとも1つ由来の免疫グロブリンFv可変ドメインのすべてまたは一部分をコードする核酸配列の単離、操作および発現を含む。そのような核酸は、上記のような、既定の標的に対する抗体を產生するハイブリドーマから、およびその他の供給源から、入手され得る。ヒト化抗体分子をコードする組み換えDNAは、次いで、適当な発現ベクターにクローニングされ得る。

ヒト化抗体は、保存的置換、コンセンサス配列置換、生殖系列置換および／または復帰変異の導入によって最適化され得る。そのような変更された免疫グロブリン分子は、当技術分野で公知の様々な技術のいずれかによって作製することができ（例えば、Teng et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 80: 7308-7312, 1983; Kozbor et al., *Immunology Today*, 4: 7279, 1983; Olsson et al., *Meth. Enzymol.*, 92: 3-16, 1982）、かつEP 2 39 400の教示にしたがい作製され得る。

【0057】

「ヒト抗体」という用語は、例えばKabatら (Kabat et al. (1991) *loc. cit.*を参照のこと)によって記載されたものを含む、当技術分野で公知のヒト生殖系列免疫グロブリン配列に実質的に対応する可変および定常領域を有する抗体を含む。本発明のヒト抗体は、例えばCDRに、特にCDR3に、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロでの無作為もしくは部位特異的変異誘発によってまたはインビボでの体細胞変異によって導入される変異）を含み得る。ヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基で置き換えられた、少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたはそれ以上の位置を有し得る。

【0058】

本明細書で使用される場合、「インビトロ生成された抗体」は、可変領域（例えば、少なくとも1つのCDR）のすべてまたは一部分が非免疫細胞選択（例えば、インビトロファージディスプレイ、タンパク質チップまたは候補配列をそれらの抗原結合能力について試験することができる任意のその他の方法）によって生成された抗体を表す。したがってこの用語は、好ましくは、免疫細胞内での遺伝子の再配置によって生成される配列を排除する。

「二重特異性」または「2機能性」抗体または免疫グロブリンは、2つの異なる重鎖／軽鎖の対および2つの異なる結合部位を有する人工ハイブリッド抗体または免疫グロブリンである。二重特異性抗体は、ハイブリドーマの融合またはFab'フラグメントの連結を含む様々な方法によって製造することができる。例えば、Songsivilai & Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.* 79: 315-321 (1990)を参照のこと。抗体またはその抗原結合フラグメントの取得に関しては当業者に公知の多くの方法が利用可能である。例えば、抗体は、組み換えDNA法（米国特許第4,816,567号）を用いて製造することができる。モノクローナル抗体はまた、公知の方法にしたがうハイブリドーマの生成（例えば、Kohler and Milstein

10

20

30

40

50

(1975) *Nature*, 256: 495-499を参照のこと) によって製造され得る。この様式で形成されるハイブリドーマは、次に、対象抗原に特異的に結合する抗体を產生する1つまたは複数のハイブリドーマを同定するために、標準的な方法、例えば酵素連結免疫吸着アッセイ(ELISA)および表面プラズモン共鳴(BIACORE(商標))分析を用いてスクリーニングされる。任意の形態の対象抗原、例えば、組み換え抗原、天然に存在する形態、それらの任意の変種またはフラグメントおよびそれらの抗原性ペプチド、が免疫原として使用され得る。

【 0 0 5 9 】

「CDR」という用語およびその複数形は、相補性決定領域(CDR)を表し、そのうちの3つが軽鎖可変領域の結合特性を構成し(CDRL1、CDRL2およびCDRL3)、3つが重鎖可変領域の結合特性を構成する(CDRH1、CDRH2およびCDRH3)。CDRは、抗体分子の機能的活性に寄与し、スキヤホールドまたはフレームワーク領域を含むアミノ酸配列によって分断されている。厳密なCDRの境界および長さは、分類および番号付け体系によって異なる。したがってCDRは、本明細書に記載される番号付け体系を含む、Kabat、Chothia、接触(contact)または任意のその他の境界の定義によって表され得る。境界が異なるとしても、これらの体系の各々は、可変配列内のいわゆる「超可変領域」を構成する部分に関してある程度重複している。したがって、これらの体系にしたがうCDRの定義は、長さおよび隣接するフレームワーク領域との境界領域の点で異なり得る。例えば、Kabat、Chothiaおよび/またはMacCallum(Kabat et al., loc. cit.; Chothia et al., J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; およびMacCallum et al., J. Mol. Biol., 1996, 262: 732)を参照のこと。しかし、いわゆるKabat体系にしたがう番号付けが好ましい。

典型的に、CDRは、カノニカル構造に分類され得るループ構造を形成する。「カノニカル構造」という用語は、抗原結合(CDR)ループによって採用される主鎖の立体構造を表す。多くの構造研究により、6つの抗原結合ループのうちの5つは、利用可能な立体構造に関して限られたレパートリーしか有さないことが見出された。各カノニカル構造は、ポリペプチド骨格のねじれ角によって特徴づけることができる。したがって抗体間で対応するループは、それらのループの大部分において高度のアミノ酸配列可変性がみられるにもかかわらず、非常によく似た3次元構造を有し得る(各々全体が参照により本明細書に組み入れられる、Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia et al., Nature, 1989, 342: 877; Martin and Thornton, J. Mol. Biol., 1996, 263: 800)。さらに、採用されるループ構造とその周囲のアミノ酸配列の間に関連性がある。特定のカノニカルクラスの立体構造は、ループの長さならびにそのループ内および保存されたフレームワーク内(すなわち、ループ外)の鍵となる位置に存在するアミノ酸残基によって決定される。したがって、特定のカノニカルクラスへの割り当ては、これらの鍵となるアミノ酸残基の存在に基づいてなされ得る。「カノニカル構造」という用語はまた、例えばKabatによるカタログ(Kabat et al., loc. cit.)にあるように、抗体の直線配列に対する考慮を含み得る。Kabatの番号付けスキーム(体系)は、抗体可変ドメインのアミノ酸残基の番号付けを共通の様式で行うために広く採用されている標準であり、本明細書の他所でも述べられているように本発明に適用される好ましいスキームである。さらなる構造の考慮も、抗体のカノニカル構造を決定するために使用され得る。例えば、Kabatの番号付けによっては十分に反映されない違いは、Chothiaらの番号付け体系によって説明され得および/またはその他の技術、例えば結晶学および2次元もしくは3次元コンピューター modeling、によって明らかにされ得る。したがって、所定の抗体配列は、(例えば、様々なカノニカル構造をライブラリに含めたいという要望に基づき)特に適当なシャーシ(chassis)配列を見出すことができるカノニカルクラスに分類され得る。抗体のアミノ酸配列の Kabat の番号付けおよび Chothia et al., loc. cit. により記載される構造の考慮ならびに抗体構造のカノニカルな局面を解釈するためのそれらの含意は、文献に記載されている。

CDR3は、典型的に、抗体結合部位における分子的多様性の最大の供給源である。例えば、H3は、2つのアミノ酸残基という短いものまたは26アミノ酸より大きなものであり得る。様々なクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造および3次元構造が、当技術分野で

10

20

30

40

50

周知である。抗体構造の見直しをする際には、Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow et al., 1988を参照されたい。当業者は、各サブユニット構造、例えばCH、VH、CL、VL、CDR、FR構造が、活性フラグメント、例えば抗原に結合するVH、VLもしくはCDRサブユニットの一部分、すなわち抗原結合フラグメント、または例えば、例えばFc受容体および／もしくは補体に結合するおよび／もしくはこれを活性化するCHサブユニットの一部分、を含むことを理解しているであろう。CDRは、典型的に、Sequences of Proteins of immunological Interest, US Department of Health and Human Services (1991), eds. Kabat et al.に記載されるようなKabat CDRを表す。抗原結合部位を特徴づける別の標準は、Chothiaによって記載される超可変ループを参照することである。例えば、Chothia, et al. (1987; J. Mol. Biol. 227; 799-817)；およびTomlinson et al. (1995) EMBO J. 14: 4628-4638を参照のこと。さらに別の標準は、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用されるAbM定義である。例えば、概要については、Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains. In: Antibody Engineering Lab Manual (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg)を参照のこと。Kabat CDRに基づいて説明される態様は、代替的に、Chothia超可変ループまたはAbM定義のループに基づいて同様に説明される関係を用いて実施され得る。

アセンブリおよび体細胞変異後の抗体遺伝子の配列は高度に多様化しており、これらの多様化した遺伝子は 10^{10} 個の異なる抗体分子をコードすると見積もられる (Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995)。免疫系はそのようにして免疫グロブリンのレパートリーを提供する。「レパートリー」という用語は、少なくとも1つの免疫グロブリンをコードする少なくとも1つの配列から全体がまたは一部が派生した少なくとも1つのヌクレオチド配列を表す。これらの配列は、インビオでの重鎖のV、DおよびJセグメントならびに軽鎖のVおよびJセグメントの再配置によって生成され得る。あるいは、これらの配列は、再配置を起こさせるもの、例えばインビトロ刺激、に応じて細胞から生成され得る。あるいは、これらの配列の一部またはすべてが、DNAスプライシング、ヌクレオチド合成、変異誘発およびその他の方法によって取得され得る。例えば、米国特許第5,565,332号を参照のこと。レパートリーは、1つのみの配列を含み得、または多種遺伝子コレクションの配列を含む、複数の配列を含み得る。

【0060】

「フレームワーク領域」という用語は、よりばらつきのある（すなわち、超可変性の）CDRの間に存在する、抗体可変領域の当技術分野で知られている部分を表す。そのようなフレームワーク領域は、典型的に、フレームワーク1～4 (FR1, FR2, FR3およびFR4)と称され、6つのCDR (重鎖の3つおよび軽鎖の3つ) を3次元空間に提示し抗原結合表面を形成するためのスキヤホールドを提供する。

【0061】

本発明の結合分子は、好ましくは、「単離された」結合分子である。本明細書に開示される結合分子を説明するために使用される「単離された」は、その生産環境の成分から特定され、分離されおよび／または回収された結合分子を意味する。好ましくは、単離された結合分子は、その生産環境由来のすべての他の成分を伴わないものである。その生産環境の混入成分、例えば組み換えトランスクレクト細胞から生じたものは、典型的にそのポリペプチドの診断的または治療的利用を妨げるであろう物質であり、酵素、ホルモンおよびその他のタンパク質性または非タンパク質性の溶質を含み得る。好ましい態様において、結合分子は、(1)スピンカップ式配列決定装置の使用によって少なくとも15残基のN末端もしくは内部アミノ酸配列を得るのに十分な程度まで、または(2)クマシーブルーもしくは好ましくは銀染色を用いる非還元または還元条件下でのSDS-PAGEによって均質になるまで、精製される。しかし、通常、単離された抗体は、少なくとも1つの精製工程によって調製される。

【0062】

本明細書に記載される結合分子のアミノ酸配列修飾が考慮に入れられる。例えば、抗体

10

20

30

40

50

の結合親和性および／またはその他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。結合分子のアミノ酸配列変種は、結合分子の核酸に適当なヌクレオチド変化を導入することによってまたはペプチド合成によって調製される。

【0063】

そのような修飾は、例えば、結合分子のアミノ酸配列内の残基の欠失および／または挿入および／または置換を含む。最終構築物が所望の特性を保持する限り、欠失、挿入および置換の任意の組み合わせが、その最終構築物に到達するためになされる。アミノ酸の変化はまた、結合分子の翻訳後プロセスを変更し得る、例えば、グリコシリ化部位の数または位置を変化させ得る。好ましくは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のアミノ酸がCDRにおいて置換され得、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20または25個のアミノ酸がフレームワーク領域（FR）において置換され得る。置換は、好ましくは、本明細書に記載されるような保存的置換である。付加的にまたは代替的に、1、2、3、4、5または6個のアミノ酸がCDRの各々において挿入または欠失され得（当然、それらの長さに依存して）、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20または25個のアミノ酸がFRの各々において挿入または欠失され得る。

10

【0064】

変異誘発に好ましい位置である結合分子の特定の残基または領域の同定に有用な方法は、*Science*, 244: 1081-1085 (1989)においてCunningham and Wellsによって記載されるように「アラニンスキャン変異誘発」と呼ばれるものである。この方法では、結合分子内の残基または標的残基群が、同定され（例えば、荷電残基、例えばarg、asp、his、lysおよびglu）、そしてエピトープに対するそのアミノ酸の相互作用に影響を与えるよう、中性または負荷電アミノ酸（最も好ましくは、アラニンまたはポリアラニン）で置き換えられる。

20

【0065】

この置換に対して機能的感受性を示すアミノ酸位置は、次いで、その置換部位にまたは置換部位のためにさらなるまたはその他の変種を導入することによって厳選される。したがって、アミノ酸配列変種の導入部位は予め決定されるが、変異の性質自体は予め決定される必要はない。例えば、所定部位における変異の働きを分析するため、alaスキャンまたは無作為変異誘発が標的のコドンまたは領域において行われ、そして発現される結合分子の変種が所望の活性についてスクリーニングされる。

30

【0066】

好ましくは、アミノ酸配列挿入は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10残基～100残基またはそれ以上を含むポリペプチドの長さの範囲の、アミノおよび／またはカルボキシル末端融合ならびに单一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。結合分子の挿入変種は、酵素への抗体のNまたはC末端の融合または抗体の血清半減期を増加させるポリペプチドへの融合を含む。

【0067】

別のタイプの変種は、アミノ酸置換変種である。これらの変種は、好ましくは、結合分子の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9または10個のアミノ酸残基が異なる残基で置き換えられたものである。置換変異誘発に関する最大の関心対象の部位は、重鎖および／または軽鎖のCDR、特に超可変領域を含むが、重鎖および／または軽鎖におけるFRの変更もまた考慮に入れられる。

40

【0068】

例えば、CDR配列が6個のアミノ酸を含む場合、これらのアミノ酸のうちの1、2または3個が置換されることが想定される。同様に、CDR配列が15個のアミノ酸を含む場合、これらのアミノ酸の1、2、3、4、5または6個が置換されることが想定される。

【0069】

一般に、重鎖および／または軽鎖のCDRの1つもしくは複数またはすべてにおいてアミノ酸が置換される場合、それによって得られる「置換された」配列が「当初の」CDR配列と

50

少なくとも60%同一であることが好ましく、より好ましくは65%、さらにより好ましくは70%、特別に好ましくは75%、より特別に好ましくは80%である。これは、それがどの程度「置換された」配列と同一であるのかがCDRの長さに依存することを意味する。例えば、5アミノ酸を有するCDRは、少なくとも1つのアミノ酸が置換される場合、好ましくはその置換されたアミノ酸配列と少なくとも80%同一である。したがって、結合分子のCDRは、それらの置換された配列に対して異なる程度の同一性を有し得る、例えば、CDRL1は80%を有し得、CDRL3は90%を有し得る。

【0070】

好ましい置換（または置き換え）は、保存的置換である。しかし、結合分子が第1の結合ドメインを通じてBCMAに結合し第2の結合ドメインを通じてCD3イプシロンに結合する能力を保持する限りおよび／またはそのCDRがそのように置換される配列に対して同一性を有する（「当初」のCDR配列に対して少なくとも60%、より好ましくは65%、さらにより好ましくは70%、特別に好ましくは75%、さらに特別に好ましくは80%同一である）限り、任意の置換（非保存的置換または以下の表1に列挙される「例示的な置換」の1つもしくは複数を含む）が想定されている。

【0071】

保存的置換は、表1の「好ましい置換」という見出しの下に示されている。そのような置換が生物学的活性を変化させる場合、表1で「例示的な置換」として挙げられたまたはアミノ酸クラスに関して以下にさらに記載されるようなより実質的な変更が導入され、そしてその生産物が所望の特性についてスクリーニングされ得る。

【0072】

(表1) アミノ酸置換

| 当初 | 例示的な置換 | 好ましい置換 |
|---------|----------------------------|--------|
| Ala (A) | val, leu, ile | val |
| Arg (R) | lys, gln, asn | lys |
| Asn (N) | gln, his, asp, lys, arg | gln |
| Asp (D) | glu, asn | glu |
| Cys (C) | ser, ala | ser |
| Gln (Q) | asn, glu | asn |
| Glu (E) | asp, gln | asp |
| Gly (G) | ala | ala |
| His (H) | asn, gln, lys, arg | arg |
| Ile (I) | leu, val, met, ala, phe | leu |
| Leu (L) | ノルロイシン, ile, val, met, ala | ile |
| Lys (K) | arg, gln, asn | arg |
| Met (M) | leu, phe, ile | leu |
| Phe (F) | leu, val, ile, ala, tyr | tyr |
| Pro (P) | ala | ala |
| Ser (S) | thr | thr |
| Thr (T) | ser | ser |
| Trp (W) | tyr, phe | tyr |
| Tyr (Y) | trp, phe, thr, ser | phe |
| Val (V) | ile, leu, met, phe, ala | leu |

【0073】

10

20

30

40

50

本発明の結合分子の生物学的特性の実質的修飾は、(a) 置換領域のポリペプチド骨格の構造、例えばシートもしくはらせん立体構造、(b) 標的部位における分子の電荷もしくは疎水性、または(c) 側鎖のかさ高さ、の維持に対するそれらの効果が有意に異なる置換を選択することによって達成される。天然に存在する残基は、共通の側鎖特性に基づきグループ分けされる：(1) 疎水性：ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile；(2) 中性親水性：cys、ser、thr；(3) 酸性：asp、glu；(4) 塩基性：asn、gin、his、lys、arg；(5) 鎖の配向性に影響する残基：gly、pro；および(6) 芳香族：trp、tyr、phe。

【0074】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーから別のクラスのメンバーへの交換を伴うものであろう。結合分子の適切な立体構造の維持に関与しない任意のシステイン残基は、その分子の酸化安定性を改善し異常な架橋を防ぐために、通常セリンで置換され得る。逆に、システイン結合は、抗体に対して、その安定性（特にその抗体が抗体フラグメント、例えばFvフラグメントである場合）を改善するために添加され得る。

10

【0075】

特に好ましいタイプの置換変種は、親抗体（例えば、ヒト化またはヒト抗体）の1つまたは複数の超可変領域残基の置換を含むものである。通常、さらなる開発のために選択される得られた変種は、それらの起源となった親抗体に比して改善された生物学的特性を有するものであろう。そのような置換変種を生成する簡便な方法は、ファージディスプレイを用いる親和性成熟を含む。簡潔に説明すると、いくつかの超可変領域部位（例えば、6～7部位）が、各部位ですべての可能性のあるアミノ酸置換が生成されるよう変異される。そのように生成された抗体変種は、1価の形態で、纖維状ファージ粒子から、各粒子内にパッケージングされたM13の遺伝子III産物との融合物として提示される。ファージディスプレイされた変種は、次に、修飾のための超可変領域部位候補を同定するために、本明細書に開示されるようにしてそれらの生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされ、抗原結合に有意に寄与する超可変領域残基を同定するために、アラニンスキャン変異誘発が行われ得る。あるいはまたは加えて、結合ドメインおよび例えばヒトBCMAの間の接觸点を同定するために、抗原・抗体複合体の結晶構造を分析することが有益であり得る。そのような接觸残基および隣接残基は、本明細書で詳述される技術にしたがう置換の候補である。そのような変種が生成された後、変種のパネルが本明細書に記載されるスクリーニングに供され、そして1つまたは複数の関連するアッセイにおいて優れた特性を示す抗体が、さらなる開発のために選択され得る。

20

【0076】

結合分子の他の修飾も本明細書で考慮に入れられる。例えば、結合分子は、様々な非タンパク質性ポリマー、例えばポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリアルキレンまたはポリエチレングリコールおよびポリプロピレングリコールのコポリマー、の1つに連結され得る。結合分子はまた、例えばコアセルベーション技術によってまたは界面重合によって調製されたマイクロカプセル（例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチンマイクロカプセルおよびポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセル）に、コロイド薬物送達システム（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフィア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子およびナノカプセル）に、またはマクロエマルジョンに捕捉され得る。そのような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A., Ed., (1980)に開示されている。

30

【0077】

本明細書に開示される結合分子はまた、免疫リポソームとして処方され得る。「リポソーム」は、哺乳動物への薬物送達に有用な様々なタイプの脂質、リン脂質および/または界面活性剤から構成される小さな小胞である。リポソームの成分は通常、生体膜の脂質の配置と同様の2重層の形式で配置される。抗体を含むリポソームは、例えば、Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); 米国特許第4,485,045号および同第4,544,545号；ならびに

40

50

1997年10月23日公開のWO 97/38731に記載されるような当技術分野で公知の方法によって調製される。循環時間が強化されたリポソームは、米国特許第5,013,556号に開示されている。特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロールおよびPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン(PEG-PE)を含む脂質組成物を用いる逆相蒸発法によって生成され得る。リポソームは、所望の直径のリポソームを得るために、規定の孔サイズのフィルターを通して押出しされる。本発明の抗体のFab'フラグメントは、ジスルフイド交換反応を通じてMartin et al. J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982)に記載されるようなリポソームにコンジュゲートされ得る。場合により、化学療法剤がリポソーム内に含められる。Gabizon et al. J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989)を参照のこと。

10

【0078】

組み換え技術を用いる場合、結合分子は、ペリプラズム間隙で細胞内產生され得、または培地に直接分泌され得る。結合分子が細胞内產生される場合、最初の工程として、宿主細胞または溶解したフラグメントのいずれかの粒状の残骸が、例えば遠心分離または限外ろ過によって除去される。Carter et al., Bio/Technology 10: 163-167 (1992)は、大腸菌(E.coli)のペリプラズム間隙に分泌された抗体を単離する手順を記載している。

【0079】

細胞から調製される結合分子組成物は、例えばヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析および親和性クロマトグラフィーを用いて精製され得、親和性クロマトグラフィーが好ましい精製技術である。

20

【0080】

さらなる局面において、本発明は、本発明の結合分子をコードする核酸配列に関する。「核酸」という用語は、当業者に周知であり、DNA(例えば、cDNA)およびRNA(例えば、mRNA)を含む。核酸は、2本鎖および1本鎖、直鎖状および環状であり得る。核酸分子は、好ましくは、好ましくは宿主細胞の中に含まれる、ベクターの中に含まれる。宿主細胞は、例えば、本発明の核酸配列を用いた形質転換またはトランスフェクションの後に、結合分子を発現することができる。その目的で、核酸分子は、制御配列に機能的に連結される。

【0081】

ベクターは、(外来)遺伝子物質を細胞内に運搬するためのビヒクルとして使用される核酸分子である。「ベクター」という用語は、プラスミド、ウイルス、コスマドおよび人工染色体を含むがこれらに制限されない。一般に、工学ベクターは、複製起点、マルチクローニング部位および選択マーカーを含む。ベクター自体は、一般に、インサート(導入遺伝子)およびベクターの「骨格」の役割をするより大きな配列を含むヌクレオチド配列、通常DNA配列である。最近のベクターは、導入遺伝子インサートおよび骨格に加えて追加の特徴：プロモーター、遺伝子マーカー、抗生物質耐性、レポーター遺伝子、標的化配列、タンパク質精製タグを含み得る。発現ベクター(発現構築物)と呼ばれるベクターは特に、標的細胞において導入遺伝子を発現させるためのものであり、一般に、制御配列、例えば導入遺伝子の発現を促すプロモーター配列を有する。標的細胞へのベクターの投入は、通常、細菌細胞の場合は「形質転換」、真核生物細胞の場合は「トランスフェクション」と呼ばれるが、ウイルスベクターの投入は「形質導入」とも呼ばれる。

30

【0082】

本明細書で使用される場合、「宿主細胞」という用語は、本発明の結合分子をコードする核酸が形質転換、トランスフェクション等によって導入される細胞を表すことが意図されている。そのような用語は、特定の対象細胞だけでなく、そのような細胞の子孫または潜在的子孫も表すことを理解されたい。後続の世代では変異または環境の影響のいずれかにより一定の修飾が起こり得るので、そのような子孫は、実際には、その親細胞と同一ではないかもしれないが、そうであっても本明細書で使用される場合はこの用語の範囲に含まれる。

40

【0083】

50

本明細書で使用される場合、「発現」という用語は、転写、転写後修飾、翻訳、翻訳後修飾および分泌を含むがこれらに限定されない、本発明の結合分子の產生に関する任意の工程を含む。

【 0 0 8 4 】

「制御配列」という用語は、機能的に連結されたコード配列を特定の宿主生物において発現させるのに必要なDNA配列を表す。原核生物に適した制御配列は、例えば、プロモーター、場合によりオペレーター配列およびリボソーム結合部位を含む。真核生物細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナルおよびエンハンサーを利用することが公知である。

【 0 0 8 5 】

核酸は、それが別の核酸配列との機能的関係の下に置かれている場合、「機能的に連結」されている。例えば、プレ配列もしくは分泌リーダーのためのDNAがポリペプチドのためのDNAに機能的に連結されているのは、それがポリペプチドの分泌に関するプレタンパク質として発現される場合であり；プロモーターもしくはエンハンサーがコード配列に機能的に連結されているのは、それがその配列の転写に影響する場合であり；またはリボソーム結合部位がコード配列に機能的に連結されているのは、それが翻訳を促進するよう配置される場合である。一般に、「機能的に連結」は、連結されるDNA配列が連続していること、および、分泌リーダーの場合は、連続しかつリーディングフェーズ内にあることを意味する。しかし、エンハンサーは、連続している必要がない。連結は、都合の良い制限部位でのライゲーションによって達成される。そのような部位が存在しない場合、従来の実務にしたがい、合成性のオリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーが使用される。

【 0 0 8 6 】

「宿主細胞」、「標的細胞」または「レシピエント細胞」という用語は、ベクターまたは外因性の核酸分子、ポリヌクレオチドおよび／もしくはタンパク質の組み込みのためのレシピエントであり得るまたはすでにレシピエントとなっている任意の個々の細胞または細胞培養物を含むことが意図されている。それはまた1つの細胞の子孫を含むことも意図されており、その子孫は、自然、偶発的または計画的変異により、必ずしも元の親細胞と（形態またはゲノムもしくは総DNAの補完性の点で）完全に同一でないかもしれない。細胞は原核生物細胞または真核生物細胞であり得、細菌細胞、酵母細胞、動物細胞および哺乳動物細胞、例えばマウス、ラット、マカクまたはヒトを含むがこれらに限定されない。

【 0 0 8 7 】

適当な宿主細胞は、原核生物ならびに酵母、真菌、昆虫細胞および哺乳動物細胞を含む真核生物宿主細胞を含む。

【 0 0 8 8 】

本発明の結合分子は、細菌において產生され得る。発現後、本発明の結合分子、好ましくは結合分子は、溶液画分において大腸菌細胞ペーストから単離され、そして例えば親和性クロマトグラフィーおよび／またはサイズ排除を通じて精製され得る。最終精製は、例えばCHO細胞において発現させた抗体を精製するためのプロセスと同様に行われ得る。

【 0 0 8 9 】

原核生物に加えて、真核微生物、例えば糸状菌または酵母が、本発明の結合分子に適したクローニングまたは発現宿主である。出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) または一般パン酵母は、下等真核宿主微生物の中で最も一般的に使用されている。しかし、多くの他の属、種および株が一般に利用可能であり、かつ本発明において有用である、例えば、分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、クルイベロマイセス (*Kluyveromyces*) 宿主、例えば *K. lactis* (*K. lactis*)、*K. fragilis* (ATCC 12424)、*K. bulgaricus* (*K. bulgaricus*) (ATCC 16045)、*K. wickeramii* (ATCC 24178)、*K. waltii* (ATCC 56500)、*K. drosophilae* (*K. drosophilae*) (ATCC 36906)、*K. thermotolerans* (*K. thermotolerans*) および *K. marxianus* (*K. marxianus*)；ヤロウイア (*yarrowia*) (EP 402 226)；ピキア・パストリス

10

20

30

40

50

(*Pichia pastoris*) (EP 183 070) ; カンジダ (*Candida*) ; トリコダーマ・リーシア (*Trichoderma reesia*) (EP 244 234) ; ニューロスボラ・クラッサ (*Neurospora crassa*) ; シュワンニオミセス (*Schwanniomyces*)、例えばシュワンニオミセス・オクシデンタリス (*Schwanniomyces occidentalis*) ; ならびに糸状菌、例えばニューロスボラ、ペニシリウム (*Penicillium*)、トリポクラジウム (*Tolypocladium*) およびアスペルギルス (*Aspergillus*) 宿主、例えば *A. nidulans* および *A. niger*) 。

【 0 0 9 0 】

本発明のグリコシル化結合分子、好ましくは抗体由来結合分子の発現に適した宿主細胞は、多細胞生物から得られる。無脊椎動物細胞の例は、植物および昆虫細胞を含む。多くのバキュロウイルス株および変種ならびにヨトウガ (*Spodoptera frugiperda*) (毛虫) 、ネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) (蚊) 、ヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) (蚊) 、キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) (ショウジョウバエ) およびカイコ (*Bombyx mori*) 等の宿主由来の対応する許容される昆虫宿主細胞が同定されている。トランスフェクションのための様々なウイルス株、例えばオートグラファ・カリフォルニア (*Autographa californica*) NPVのL-1変種およびカイコNPVのBm-5株、が公的に入手可能であり、そのようなウイルスが、本発明にしたがい本明細書においてウイルスとして、特にヨトウガ細胞のトランスフェクションのために、使用され得る。

【 0 0 9 1 】

綿、トウモロコシ、ジャガイモ、ダイズ、ペチュニア、トマト、シロイスナズナおよびタバコの植物細胞培養物もまた、宿主として使用され得る。植物細胞培養物におけるタンパク質の産生に有用なクローニングおよび発現ベクターは当業者に公知である。例えば、Hiatt et al., *Nature* (1989) 342: 76-78、Owen et al. (1992) *Bio/Technology* 10: 79 0-794、Artsaenko et al. (1995) *The Plant J* 8: 745-750およびFecker et al. (1996) *Plant Mol Biol* 32: 979-986を参照のこと。

【 0 0 9 2 】

しかし、脊椎動物細胞に対する関心が最も高く、培養(組織培養)下での脊椎動物細胞の繁殖は慣用手順となっている。有用な哺乳動物宿主細胞株の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株 (COS-7、ATCC CRL 1651) ; ヒト胎児腎臓株 (293または懸濁培養下での成長に関してサブクローニングされた293細胞、Graham et al., *J. Gen Virol.* 36 : 59 (1977)) ; ベビーハムスター腎臓細胞 (BHK、ATCC CCL 10) ; チャイニーズハムスター卵巣細胞 / -DHFR (CHO、Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216 (1980)) ; マウスセルトリ細胞 (TM4、Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251 (1980)) ; サル腎臓細胞 (CV1 ATCC CCL 70) ; アフリカミドリザル腎臓細胞 (VERO-76、ATCC CRL1587) ; ヒト子宮頸癌細胞 (HELA、ATCC CCL 2) ; イヌ腎臓細胞 (MDCK、ATCC CCL 34) ; パッファローラット肝臓細胞 (BRL 3A、ATCC CRL 1442) ; ヒト肺細胞 (W138、ATCC CCL 75) ; ヒト肝臓細胞 (Hep G2、1413 8065) ; マウス乳癌 (MMT 060562、ATCC CCL5 1) ; TRI細胞 (Mather et al., *Annals N. Y Acad. Sci.* 383: 44-68 (1982)) ; MRC 5細胞 ; FS4細胞 ; およびヒトヘパトーマ株 (Hep G2) である。

【 0 0 9 3 】

組み換え技術を用いる場合、本発明の結合分子は、ペリプラズム間隙で細胞内產生され得、または培地に直接分泌され得る。結合分子が細胞内產生される場合、最初の工程として、宿主細胞または溶解したフラグメントのいずれかの粒状の残骸が、例えば遠心分離または限外ろ過によって除去される。Carter et al., *Bio/Technology* 10: 163-167 (1992) は、大腸菌のペリプラズム間隙に分泌された抗体を単離する手順を記載している。簡潔に説明すると、細胞ペーストを、酢酸ナトリウム (pH 3.5) 、EDTAおよびフッ化フェニルメチルスルホニル (PMSF) の存在下で約30分間解凍する。細胞の残骸は、遠心分離によって除去され得る。抗体が培地中に分泌される場合、通常最初に、そのような発現システムの上清が、市販のタンパク質濃縮フィルター、例えばAmiconまたはMillipore Pellicon限外ろ過ユニットを用いて遠心分離される。プロテアーゼ阻害剤、例えばPMSFは、タンパク質

10

20

30

40

50

分解を阻害するために、上記の工程のいずれかにおいて含められ得、そして抗生物質は、外来混入物の成長を防ぐために、含められ得る。

【0094】

宿主細胞から調製された本発明の結合分子は、例えばヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析および親和性クロマトグラフィーを用いて精製され得、親和性クロマトグラフィーが好ましい精製技術である。

【0095】

親和性リガンドを付加するマトリクスは、アガロースであることが最も多いため、他のマトリクスも利用可能である。機械的に安定なマトリクス、例えば規定の孔を有するガラスまたはポリ(スチレンジビニル)ベンゼンは、アガロースを用いて達成できるよりも速い流速および短い処理時間を実現する。本発明の結合分子がCH3ドメインを含む場合、Baker bond ABXMresin (J. T. Baker, Phillipsburg, NJ) が精製に有用である。他のタンパク質精製技術、例えばイオン交換カラムによる分画、エタノール沈降、逆相HPLC、シリカによるクロマトグラフィー、ヘパリンSEPHAROSE(商標)によるクロマトグラフィー、アニオンまたはカチオン交換樹脂(例えば、ポリアスパラギン酸カラム)によるクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGEおよび硫酸アンモニウム沈降もまた、回収される抗体に依存して利用可能である。

別の局面においては、本明細書で定義される宿主細胞を、結合分子の発現を可能にする条件下で培養する工程、および、產生された結合分子を培養物から回収する工程を含む、本発明の結合分子を製造するプロセスが提供される。

【0096】

「培養」という用語は、培地中の適切な条件下での細胞のインビトロ維持、分化、成長、増殖および/または繁殖を表す。

【0097】

代替の態様においては、本発明の結合分子を含むまたは本発明のプロセスにしたがって製造される組成物が提供される。好ましくは、組成物は薬学的組成物である。

本明細書で使用される場合、「薬学的組成物」という用語は、患者、好ましくはヒト患者に投与する組成物を表す。特定の好ましい本発明の薬学的組成物は、本発明の結合分子を含む。好ましくは、薬学的組成物は、担体、安定剤および/または賦形剤の適当な処方物を含む。好ましい態様において、薬学的組成物は、非経口、経皮、腔内、動脈内、くも膜下腔内および/もしくは鼻腔内投与または組織への直接注射のための組成物を含む。組成物が注入または注射を通じて患者に投与されることが特に想定されている。適当な組成物の投与は、異なる方法によって、例えば、静脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、局所または皮内投与によって、行われ得る。特に、本発明は、適当な組成物の中止のない投与を提供する。非限定的な例として、中止のない、すなわち連続的な投与は、患者体内への治療剤の流入を計量する患者に装着された小型ポンプシステムによって行われ得る。本発明の結合分子を含む薬学的組成物は、このポンプシステムを用いることによって投与され得る。そのようなポンプシステムは概ね当技術分野で公知であり、一般には注入される治療剤を含むカートリッジの定期的交換が必要である。そのようなポンプシステムにおいてカートリッジを交換する際、それ以外では中止されない患者体内への治療剤の流入の一時的中止が生じ得る。そのような場合であっても、カートリッジ交換前の投与フェーズとカートリッジ交換後の投与フェーズは、薬学的手段および本発明の方法のどちらの意味においても、依然としてそのような治療剤の「中止のない」投与を構成するとみなされるであろう。

【0098】

本発明のこれらの結合分子の連続的なまたは中断のない投与は、流体をリザーバから送り出すための流体送出機構および送出機構を作動させるための作動機構を含む、流体送達デバイスまたは小型ポンプシステムによる静脈内または皮下投与であり得る。皮下投与用のポンプシステムは、患者の皮膚に突き入り適當な組成物を患者体内に送達するための針またはカニューレを含み得る。このポンプシステムは、静脈、動脈または血管に関係なく、ポンプシステムと患者の皮膚が直接接觸するよう患者の皮膚に直接固定または取り付け

10

20

30

40

50

られ得る。ポンプシステムは、患者の皮膚に24時間～数日間取り付けられ得る。ポンプシステムは、少量のリザーバを有する小サイズのものであり得る。非限定的な例として、投与される適当な薬学的組成物のためのリザーバの容量は、0.1～50mlの間であり得る。

連続的な投与は、皮膚に装着され一定間隔で交換されるパッチによる経皮投与であり得る。当業者は、この目的に適した薬物送達のためのパッチシステムに精通している。経皮投与は、第1の使いきったパッチの交換が、新しい第2のパッチを例えれば第1の使いきったパッチのすぐ隣の皮膚表面におよび第1の使いきったパッチの除去直前に設置するのと同時に達成され得る利点があるために、中断のない投与に特に適しているに注目されたい。流れの中止または動力源喪失の問題は生じない。

【0099】

本発明の組成物はさらに、薬学的に許容される担体を含み得る。適当な薬学的担体の例は当技術分野で周知であり、溶液、例えばリン酸緩衝生理食塩水溶液、水、エマルジョン、例えば油／水エマルジョン、様々なタイプの湿潤剤、滅菌溶液、リポソーム等を含む。そのような担体を含む組成物は、周知の従来法によって処方され得る。処方物は、炭水化物、緩衝溶液、アミノ酸および／または界面活性剤を含み得る。炭水化物は、非還元糖、好ましくはトレハロース、スクロース、八硫化物(octasulfate)、ソルビトールまたはキシリトールであり得る。概ね、本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」は、薬物投与に適合する任意かつすべての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤を意味する。薬学的に活性な物質のためにそのような媒体および薬剤を使用することは当技術分野で周知である。許容される担体、賦形剤または安定剤は、用いられる投薬量および濃度でレシピエントに対して非毒性であり、追加の緩衝剤；保存剤；共溶媒；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化物質；キレート化剤、例えばEDTA；金属錯体(例えば、Zn・タンパク質錯体)；生分解性ポリマー、例えばポリエステル；塩形成性の対イオン、例えばナトリウム、多価糖アルコール；アミノ酸、例えばアラニン、グリシン、アスパラギン、2-フェニルアラニンおよびスレオニン；糖または糖アルコール、例えばトレハロース、スクロース、八硫化物、ソルビトールまたはキシリトールスタキオース、マンノース、ソルボース、キシロース、リボース、ミオイニシトース(myoinisitose)、ガラクトース、ラクチトール、リビトール、ミオイニシトール、ガラクチトール、グリセロール、シクリトール(例えば、イノシトール)、ポリエチレングリコール；硫黄含有還元剤、例えばグルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、[アルファ]-モノチオグリセロールおよびチオ硫酸ナトリウム；低分子量タンパク質、例えばヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチンまたはその他の免疫グロブリン；ならびに親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドンを含む。そのような処方物は、ポンプシステムを用いるおよび／または用いない静脈内または皮下投与であり得る連続的な投与のために使用され得る。アミノ酸は、荷電アミノ酸、好ましくはリジン、リジン酢酸塩、アルギニン、グルタミン酸塩および／またはヒスチジンであり得る。界面活性剤は、デタージェント(detergent)、好ましくは分子量が $>1.2\text{KD}$ のそれ、および／またはポリエーテル、好ましくは分子量が $>3\text{KD}$ のそれ、であり得る。好ましいデタージェントの非限定的な例は、Tween 20、Tween 40、Tween 60、Tween 80またはTween 85である。好ましいポリエーテルの非限定的な例は、PEG 3000、PEG 3350、PEG 4000またはPEG 5000である。本発明において使用される緩衝システムは、5～9の好ましいpHを有し得、クエン酸塩、コハク酸塩、リン酸塩、ヒスチジンおよび酢酸塩を含み得る。

【0100】

本発明の組成物は、例えば漸増用量の本明細書に記載される種間特異性を示す本発明のポリペプチドを非チンパンジー霊長類、例えばマカク、に投与する用量増加研究によって決定され得る適当な用量で対象に投与され得る。上記のように、本明細書に記載される種間特異性を示す本発明の結合分子は、非チンパンジー霊長類における前臨床試験においておよびヒトにおける薬物として同一の形態で使用できる利点がある。これらの組成物はまた、他のタンパク質性および非タンパク質性薬物と組み合わせて投与され得る。これらの

10

20

30

40

50

薬物は、本明細書で定義される本発明のポリペプチドを含む組成物を用いて同時に投与され得または該ポリペプチドの投与前もしくは投与後に定義された時間間隔および用量で別々に投与され得る。投薬レジメンは、担当医および臨床的要因によって決定されるであろう。医学分野で周知のように、ある1人の患者に対する投薬量はその患者のサイズ、体の表面積、年齢、投与される個々の化合物、性別、投与時間および経路、健康状態全般ならびに同時に投与される他の薬物を含む、多くの要因に依存する。

非経口投与用の調製物は、滅菌された水性または非水性の溶液、懸濁物およびエマルジョンを含む。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、例えばオリーブ油、および注射可能な有機エステル、例えばオレイン酸エチルである。水性担体は、生理食塩水および緩衝化媒体を含む、水、アルコール性／水性の溶液、エマルジョンまたは懸濁物を含む。非経口ビヒクルは、塩化ナトリウム溶液、リングルデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸加リングルまたは固定油を含む。静脈内用ビヒクルは、流体および栄養補給物、電解質補給物（例えば、リングルデキストロースに基づくもの）等を含む。保存剤および他の添加物、例えば抗菌物質、抗酸化物質、キレート化剤、不活性ガス等もまた存在し得る。加えて、本発明の組成物は、例えば、好ましくはヒト起源の、血清アルブミンまたは免疫グロブリンのようなタンパク質性の担体を含み得る。本発明の組成物は、その組成物の意図されている用途に依存して、本明細書で定義される本発明のポリペプチドに加えてさらなる生物学的に活性な薬剤を含み得ることが想定されている。そのような薬剤は、胃腸管系に作用する薬物、細胞静止剤として作用する薬物、高尿酸血症(hyperurikemia)を予防する薬物、免疫反応を阻害する薬物（例えば、コルチコステロイド）、炎症応答を調整する薬物、循環器系に作用する薬物および／または当技術分野で公知の薬剤、例えばサイトカイン、であり得る。本発明の結合分子は、共同療法で、すなわち、別の抗癌医薬と併用して適用されることも想定されている。10
20

【0101】

本明細書で定義される薬学的組成物の生物学的活性は、例えば、以下の実施例に、WO 9 9/54440にまたはSchlerethら (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12) によって記載されたような、細胞毒性アッセイによって決定され得る。本明細書で使用される「効能」または「インビボ効能」は、例えば標準化されたNCIの応答基準を用いる、本発明の薬学的組成物による治療に対する応答を表す。本発明の薬学的組成物を用いる治療の成功またはインビボ効能は、その意図されている目的に対する組成物の有効性、すなわち、その所望の効果、すなわち病理学的細胞、例えば腫瘍細胞の枯渇、をもたらす組成物の能力、を表す。インビボ効能は、白血球数、分化、蛍光活性化細胞選別、骨髄吸引を含むがこれらに限定されない、各々の疾患において確立されている標準的方法によってモニタリングされ得る。加えて、様々な疾患に特異的な臨床化学パラメータおよびその他の確立された標準的方法が使用され得る。さらに、コンピューター断層撮影、X線、核磁気共鳴断層撮影（例えば、National Cancer Institute基準に基づく応答評価のため [Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippenstein D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canfell GP. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. 1999 Apr; 17(4): 1244]）、ポジトロン放出断層走査、白血球数、分化、蛍光活性化細胞選別、骨髄吸引、リンパ節生検／組織学、および様々なリンパ腫に特異的な臨床化学パラメータ（例えば、乳酸デヒドロゲナーゼ）ならびにその他の確立されている標準的方法が使用され得る。30
40

【0102】

薬物、例えば本発明の薬学的組成物、の開発における別の大きな課題は、薬物動態特性を予測できるよう調整することである。この目的で、候補薬物の薬物動態プロフィール、すなわち、所定の状態を処置する特定の薬物の能力に影響する薬物動態パラメータのプロフィール、が確立され得る。特定の疾患を処置する薬物の能力に影響する薬物の薬物動態50

パラメータは、半減期、分布容積、肝臓の初回通過時代謝および血液血清結合度を含むがこれらに限定されない。所定の薬物の効能は、上記のパラメータの各々によって影響され得る。

「半減期」は、投与された薬物の50%が生物学的プロセス、例えば代謝、排出等を通じて排除される時間を意味する。

【0103】

「肝臓の初回通過時代謝」は、薬物が肝臓に最初に接したとき、すなわち、肝臓の初回通過の間に、代謝される性質を意味する。

【0104】

「分布容積」は、例えば細胞内および細胞外空間、組織および臓器等のような、身体の様々な区画における薬物の保持ならびにこれらの区画内での薬物の分配の程度を表す。10

【0105】

「血液血清結合度」は、薬物が血液血清タンパク質、例えばアルブミンに相互作用および結合してその薬物の生物学的活性を減少または喪失させる性質を意味する。

【0106】

薬物動態パラメータはまた、バイオアベイラビリティ、ラグタイム (Tlag)、Tmax、吸収速度、より多い作用発現 (more onset) および / または投与される所定の薬物量についてのCmaxを含む。「バイオアベイラビリティ」は、血液区画の薬物の量を意味する。「ラグタイム」は、薬物の投与から血液または血漿中でのその検出および測定可能段階までの間の時間の遅れを意味する。20

【0107】

「Tmax」は、それ以降に薬物の最大血中濃度が達成される時間であり、「Cmax」は、所定の薬物によって得られる最大の血中濃度である。その生物学的效果に必要とされる薬物の血中または組織濃度に達するまでの時間は、すべてのパラメータに影響される。上記のような非チンパンジー靈長類における前臨床動物試験において決定され得る、種間特異性を示す二重特異性単鎖抗体の薬物動態パラメータは、例えばSchlerethら (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12) による刊行物にも示されている。

【0108】

本明細書で使用される「毒性」という用語は、有害事象または重篤な有害事象において見られる薬物の毒性の効果を表す。これらの副事象は、全体的な薬物の認容性の欠如および / または投与後の局所的な認容性の欠如を表し得る。毒性はまた、その薬物によって引き起こされる催奇形効果または発癌効果を含み得る。30

【0109】

本明細書で使用される「安全性」、「インビボ安全性」または「認容性」という用語は、投与直後に（局所的認容性）およびより長期の薬物適用期間の間に重篤な有害事象を誘導しない薬物の投与と定義される。「安全性」、「インビボ安全性」または「認容性」は、例えば、処置中およびフォローアップ期間中に一定間隔で評価され得る。測定は、臨床評価、例えば臓器の兆候、および検査異常のスクリーニングを含む。臨床評価が実施され、NCI-CTCおよび / またはMedDRA標準にしたがう正常所見からの逸脱が記録 / コード化され得る。臓器の兆候は、例えばCommon Terminology Criteria for adverse events v3.0 (CTCAE) に示されるように、アレルギー / 免疫学、血液 / 骨髄、心不整脈、凝固等の基準を含み得る。試験され得る検査パラメータは、例えば、血液学、臨床化学、凝固プロフィールおよび尿検査ならびにその他の体液、例えば血清、血漿、リンパまたは脊髄液、リカーカー等の試験が含まれる。したがって安全性は、例えば身体試験、画像化技術（すなわち、超音波、x線、CTスキャン、磁気共鳴画像化 (MRI) ）、専門的装置を用いるその他の測定（すなわち、心電図）、バイタルサインによって、検査パラメータを測定し有害事象を記録することによって、評価され得る。例えば、本発明にしたがう使用および方法において、非チンパンジー靈長類における有害事象が組織病理学および / または組織化学法により試験され得る。40

【0110】

「有効用量」または「有効投薬量」は、所望の効果を達成するまたは少なくとも部分的に達成するのに十分な量と定義される。「治療有効用量」という用語は、疾患にすでに罹患している患者において疾患およびその合併症を治癒するまたは少なくとも部分的に抑止するのに十分な量と定義される。この用途に効果的な量は、感染の重篤度および対象自身の免疫系の全体的状態に依存するであろう。「患者」という用語は、予防的または治療的処置のいずれかを受けるヒトおよびその他の哺乳動物対象を含む。

【0111】

本明細書で使用される「有効かつ非毒性用量」という用語は、大きな毒性作用を生じさせずにまたは本質的に生じさせずに病理学的細胞の枯渇、腫瘍の除去、腫瘍の縮退または疾患の安定化をもたらすのに十分高い、本発明の結合分子の認容可能な用量を表す。そのような有効かつ非毒性用量は、例えば当技術分野で記載されている用量増加研究によって決定され得、そしてそれは重篤な有害副事象を誘導する用量以下とされるべきである（用量制限毒性、DLT）。

10

【0112】

上記の用語はまた、例えば、Preclinical safety evaluation of biotechnology derived pharmaceuticals S6; ICH Harmonised Tripartite Guideline; ICH Steering Committee meeting on July 16, 1997も参照する。

【0113】

本発明の結合分子の適当な投薬量または治療有効量は、処置される状態、状態の重篤度、これまでの治療ならびに患者の病歴および治療剤に対する応答に依存する。適当な用量は、1度にまたは一連の投与により患者に投与され得るように、担当医の判断にしたがい調節され得る。薬学的組成物は、単独の治療としてまたは必要な場合は追加の治療、例えば抗癌治療と併用して投与され得る。

20

【0114】

本発明の薬学的組成物は、非経口投与、すなわち、皮下、筋内、静脈内、関節内および/または滑液嚢内投与に特に有用である。非経口投与は、ボーラス注射または連続注入によるものであり得る。

【0115】

薬学的組成物が凍結乾燥される場合、凍結乾燥された物質はまず、投与の前に適当な液体で再構成される。凍結乾燥された物質は、例えば注射用静菌水（BWF）、生理学的食塩水、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）または凍結乾燥の前にタンパク質を添加したのと同じ处方物で再構成され得る。

30

【0116】

好ましくは、本発明のまたは本発明のプロセスによって製造される結合分子は、増殖性疾患、腫瘍性疾患または免疫学的障害から選択される疾患の予防、処置または寛解に使用される。

【0117】

本発明の代替の態様は、増殖性疾患、腫瘍性疾患または免疫学的障害から選択される疾患の予防、処置または寛解のための方法であって、それを必要とする患者に本発明のまたは本発明のプロセスによって製造される結合分子を投与する工程を含む方法、を提供する。

40

【0118】

本明細書に記載される处方物は、それを必要とする患者における本明細書に記載される病理学的医学状態を処置し、寛解させ、かつ/または予防する薬学的組成物として有用である。「処置」という用語は、治療的処置および予防または抑止手段の両方を表す。処置は、その疾患、疾患の症状または疾患に対する素因を治癒させる、修復する、軽減する、解放する、是正する、救済する、寛解させる、改善するまたはそれに影響を与える目的での、疾患/障害、疾患/障害の症状または疾患/障害の素因を有する患者の身体、単離された組織または細胞に対する処方物の適用または投与を含む。

【0119】

50

「処置を必要とする」は、すでに障害を有している者およびその障害を予防したい者を含む。「疾患」という用語は、本明細書に記載されるタンパク質処方物を用いた処置から利益を得るであろう任意の状態である。これは、哺乳動物が問題の疾患にかかりやすくなる病理学的状態を含む、慢性および急性の障害または疾患を含む。本発明により処置される疾患／障害の非限定的な例は、増殖性疾患、腫瘍性疾患または免疫学的障害を含む。

【0120】

好ましくは、本発明の結合分子は、BCMAの（過剰）発現と相関するB細胞障害、例えば形質細胞障害および／または自己免疫疾患の予防、処置または寛解に使用される。自己免疫疾患は、例えば、全身性エリテマトーデスまたは関節リウマチである。

【0121】

BCMA/CD3二重特異性結合分子によって媒介される細胞毒性は、様々な方法で測定することができる。エフェクター細胞は、例えば、刺激され濃縮された（ヒト）CD8陽性T細胞または未刺激の（ヒト）末梢血単核細胞（PBMC）であり得る。標的細胞がマカク起源であるまたはマカクBCMAを発現するもしくはマカクBCMAでトランスフェクトされている場合、エフェクター細胞もまた、マカク起源、例えばマカクT細胞株、例えば4119LnPxであるべきである。標的細胞は、BCMA、例えばヒトまたはマカクBCMA（の少なくとも細胞外ドメイン）を発現するものであるべきである。標的細胞は、BCMA、例えばヒトまたはマカクBCMAで安定的または一過的にトランスフェクトされた細胞株（例えば、CHO）であり得る。あるいは、標的細胞は、BCMA陽性の天然発現細胞株、例えばヒト多発性骨髄腫細胞株L363またはNCI-H929であり得る。通常、EC₅₀値は、その細胞表面上に高レベルのBCMAを発現する標的細胞株に対して低くなると考えられる。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比は、通常、約10:1であるが、これは変更することもできる。BCMA/CD3二重特異性結合分子の細胞毒性活性は、51クロム放出アッセイ（インキュベート時間約18時間）においてまたはFACSベースの細胞毒性アッセイ（インキュベート時間約48時間）において測定することができる。アッセイのインキュベート時間（細胞毒性反応）は変更することも可能である。細胞毒性を測定する他の方法は、当業者に周知であり、生物発光アッセイ、スルホローダミンB（SRB）アッセイ、WSTアッセイ、クローン形成アッセイおよびECIS技術を含む、MTTまたはMTSアッセイ、ATPベースのアッセイを含む。

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子によって媒介される細胞毒性活性は、好ましくは、細胞ベースの細胞毒性アッセイにおいて測定される。それは、半数効果濃度（ベースラインと最大の中間の細胞毒性反応を誘導する結合分子の濃度）に対応するEC₅₀値によって表される。

【0122】

BCMAの（過剰）発現と相関するB細胞障害、例えば形質細胞障害および／または自己免疫疾患の処置または寛解のための方法であって、それを必要とする対象に本発明の結合分子を投与する工程を含む方法もまた、本発明によって提供される。自己免疫疾患は、例えば、全身性エリテマトーデスまたは関節リウマチである。

形質細胞障害では、形質細胞の1つのクローンが無制限に増殖する。結果として、このクローンは、膨大な量の、Mタンパク質として公知の单一（モノクローナル）抗体を產生する。いくつかの例において、例えば、単クローン性免疫グロブリン血症の例において、產生される抗体は不完全であり、軽鎖のみまたは重鎖のみからなる。これらの異常な形質細胞およびそれらが產生する抗体は、通常、1つのタイプに限定される。

好ましくは、形質細胞障害は、多発性骨髄腫、形質細胞腫、形質細胞性白血病、マクログロブリン血症、アミロイドーシス、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性骨形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローン性グロブリン血症、およびくすぶり型多発性骨髄腫からなる群より選択される。

【0123】

別の局面において、本発明の結合分子、本発明の核酸分子、本発明のベクターまたは本発明の宿主細胞を含むキットが提供される。キットは、結合分子を含む1つまたは複数のバイアルおよび使用説明書を含み得る。キットはまた、本発明の結合分子を投与するため

10

20

30

40

50

の手段、例えば注射器、ポンプ、注入器等、本発明の結合分子を再構成するための手段および／または本発明の結合分子を希釈するための手段を含み得る。

本発明の別の局面において、第2の結合ドメインは、CD3イプシロンに結合できる。本発明のさらに別の局面において、第2の結合ドメインは、ヒトCD3およびマカクCD3、好ましくはヒトCD3イプシロンおよびマカクCD3イプシロンに結合できる。付加的にまたは代替的に、第2の結合ドメインは、コモンマー・モセット、ワタボウシタマリンおよび／またはコモンリスザルのCD3イプシロンに結合できる。これらの態様にしたがい、本発明の結合分子の一方または両方の結合ドメインは、好ましくは、靈長類の哺乳動物目のメンバーに対して種間特異的(cross-species specific)である。種間特異的CD3結合ドメインは、例えば、WO 2008/119567に記載されている。

10

【0124】

T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインが、

(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 27に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 28に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 29に示されるCDR-L3；

(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 117に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 118に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 119に示されるCDR-L3；ならびに

(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 153に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 154に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 155に示されるCDR-L3から選択されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む本発明の結合分子が、特に好ましい。

20

【0125】

本発明の結合分子の代替の好ましい態様において、T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインは：

(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 12に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 13に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 14に示されるCDR-H3；

(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 30に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 31に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 32に示されるCDR-H3；

(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 48に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 49に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 50に示されるCDR-H3；

30

(d) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 66に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 67に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 68に示されるCDR-H3；

(e) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 84に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 85に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 86に示されるCDR-H3；

(f) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 102に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 103に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 104に示されるCDR-H3；

(g) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 120に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 121に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 122に示されるCDR-H3；

(h) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 138に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 139に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 140に示されるCDR-H3；

40

(i) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 156に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 157に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 158に示されるCDR-H3；ならびに

(j) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 174に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 175に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 176に示されるCDR-H3から選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域を含む。

【0126】

T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインが、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 35、39、125、129、161または165に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む本発明の結合分子が、さらに好ましい。

50

【0127】

T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインが、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 15、19、33、37、51、55、69、73、87、91、105、109、123、127、141、145、159、163、177または181に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含むことが、代替的に好ましい。

【0128】

より好ましくは、本発明の結合分子は：

(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 17または21に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 15または19に示されるVH領域；

(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 35または39に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 33または37に示されるVH領域； 10

(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 53または57に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 51または55に示されるVH領域；

(d) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 71または75に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 69または73に示されるVH領域；

(e) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 89または93に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 87または91に示されるVH領域；

(f) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 107または111に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 105または109に示されるVH領域；

(g) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 125または129に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 123または127に示されるVH領域； 20

(h) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 143または147に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 141または145に示されるVH領域；

(i) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 161または165に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 159または163に示されるVH領域；ならびに

(j) WO 2008/119567のSEQ ID NO: 179または183に示されるVL領域およびWO 2008/119567のSEQ ID NO: 177または181に示されるVH領域；

からなる群より選択されるVL領域およびVH領域を含むT細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインによって特徴づけられる。

【0129】

30

本発明の結合分子、特にT細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインの好ましい態様にしたがい、VH領域およびVL領域の対は、単鎖抗体(scFv)の形式にされる。VHおよびVL領域は、VH-VLまたはVL-VHの順で配列される。VH領域がリンカー配列のN末端側に配置されることが好ましい。VL領域は、リンカー配列のC末端側に配置される。

【0130】

上記の本発明の結合分子の好ましい態様は、WO 2008/119567のSEQ ID NO: 23、25、41、43、59、61、77、79、95、97、113、115、131、133、149、151、167、169、185または187からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むT細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインによって特徴づけられる。

【0131】

40

1つの態様において、第1および第2の結合ドメインは、抗体であるまたは抗体から得られる。別の態様において、両方の結合ドメインは、抗体であるまたは抗体から得られる。

【0132】

本発明の結合分子において、第1および第2のドメインが $(scFv)_2$ 、(單一ドメインmAb) $_2$ 、scFv-單一ドメインmAb、ダイアボディまたはこれらのオリゴマーからなる群より選択される分子を形成していることも好ましい。

【0133】

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子は、治療的効能または抗腫瘍活性を發揮できることがさらに想定されている。これは、例えば以下の実施例に、例えば実施例A19に開示される研究(進行型ヒト腫瘍異種移植モデル)で評価することができる。当業者は、有意な

50

再現性のある結果を達成しつつ、この研究の特定のパラメータ、例えば、注射する腫瘍細胞の数、注射部位、移植するヒトT細胞の数、投与するBCMA/CD3二重特異性結合分子の量および時系列、を修正または適応させる方法を知っている。好ましくは、腫瘍成長阻害T/C [%]は70もしくは60またはそれ未満、より好ましくは50もしくは40またはそれ未満、さらにより好ましくは30もしくは20またはそれ未満、そして最も好ましくは10またはそれ未満、5またはそれ未満であり、2.5またはそれ未満でさえある。

【0134】

好ましくは、本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子は、BCMA陰性細胞、例えばHL60、MESIS-SAおよびSNU-16の溶解を誘導／媒介しない、または溶解を本質的に誘導／媒介しない。「溶解を誘導しない」、「溶解を本質的に誘導しない」、「溶解を媒介しない」または「溶解を本質的に媒介しない」という用語は、本発明の結合分子が、BCMA陽性細胞株、例えばNCI-H929、L-363またはOPM-2の溶解を100%として、30%超、好ましくは20%超、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、7%、6%または5%超のBCMA陰性細胞の溶解を誘導または媒介しないことを意味する。これは、少なくとも500nMまでの結合分子の濃度の場合に適用される。当業者は、細胞溶解を測定する方法を知っており、さらなる労力を要さない。さらに、本明細書は、細胞溶解の測定方法に関する具体的指示を教示している；例えば、以下の実施例A20を参照のこと。

【0135】

本発明はまた、SEQ ID NO: 1～1000および1022～1093に示されるアミノ酸配列のいずれか1つを含む結合分子を提供する。

好ましくは、結合分子は、Xが1～100である「BCMA-(X)」で表される結合分子（付記された配列一覧表の第2列を参照のこと）由来の3つのVH CDR配列（「VH CDR1」、「VH CDR2」、「VH CDR3」と名付けられている、付記された配列一覧表の第4列を参照のこと）および／またはXが1～100であるBCMA-Xで表される結合分子（付記された配列一覧表の第2列を参照のこと）由来の3つのVL CDR配列（「VL CDR1」、「VH CDR2」、「VH CDR3」と名付けられている、付記された配列一覧表の第4列を参照のこと）を含む。

好ましくは、結合分子は、付記された配列一覧表に示されるVHおよび／またはVL配列（付記された配列一覧表の第4列を参照のこと；「VH」および「VL」）を含む。

好ましくは、結合分子は、付記された配列一覧表に示されるscFv配列（付記された配列一覧表の第4列を参照のこと；「scFv」）を含む。

好ましくは、結合分子は、付記された配列一覧表に示される二重特異性分子配列（付記された配列一覧表の第4列を参照のこと；「二重特異性分子」）を含む。

【0136】

本発明はまた、第1の結合ドメインおよび第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがB細胞成熟抗原BCMAに結合し、第2の結合ドメインがCD3に結合する、少なくとも2つの結合ドメインを含む二重特異性結合剤に関し（一般項目1）、また、以下の一般項目（GI）のものも含む：

GI 2 第1の結合ドメインがBCMAの細胞外ドメインに結合し、第2の結合ドメインがCD3の鎖に結合する、一般項目1の二重特異性結合剤。

GI 3 全長抗体または抗体フラグメントの形式である、一般項目1または2の二重特異性結合剤。

GI 4 第1のBCMA結合ドメインがマウス由来であり、第2のCD3結合ドメインがラット由来である、全長抗体の形式の一般項目3の二重特異性結合剤。

GI 5 2つのドメインが対を形成しないように同一ポリペプチド上の軽鎖可変ドメインに接続された重鎖可変ドメインを含む、ダイアボディ形態の抗体フラグメントの形式である、一般項目3の二重特異性結合剤。

GI 6 リンカーペプチドを通じてまたはヒト血清アルブミン分子によって接続された2つのscFv分子からなる二重特異性单鎖抗体の形式である、一般項目1または2の二重特異性結合剤。

GI 7 重鎖領域（VH）および対応する可変軽鎖領域（VL）が、N末端からC末端に向かって

10

20

30

40

50

VH(BCMA)-VL(BCMA)-VH(CD3)-VL(CD3)、
 VH(CD3)-VL(CD3)-VH(BCMA)-VL(BCMA)または
 VH CD3)-VL(CD3)-VL(BCMA)-VH(BCMA)

の順に配列されている、一般項目6の二重特異性結合剤。

GI 8 VHHおよびVHから選択される単一ドメイン免疫グロブリンドメインの形式である、一般項目1または2の二重特異性結合剤。

GI 9 少なくとも1つの結合ドメインがヒトBCMAに特異的であり、少なくとも1つの結合ドメインがヒトCD3に特異的である、少なくとも2つの結合ドメインを有する4つの抗体可変ドメインを有するFv分子の形式である、一般項目1または2の二重特異性結合剤。 10

GI 10 BCMAに特異的な第1の結合ドメイン、第1の結合ドメインのC末端側に配置された定常小領域、定常小領域のC末端側に配置されたサソリリンカー、および定常小領域のC末端側に配置されたCD3に特異的な第2の結合ドメイン、からなる単鎖結合分子の形式である、一般項目1または2の二重特異性結合剤。

GI 11 抗体または抗体フラグメントの2つの重鎖／軽鎖Fvを通じてBCMAに結合しあつ該抗体または抗体フラグメントの重鎖または軽鎖の非CDRループに組み込まれる加工がなされた結合ドメインを通じてCD3に結合する抗体様分子の形式である、一般項目1または2の二重特異性結合剤。

GI 12 二重特異性アンキリン反復分子の形式である、一般項目1の二重特異性結合剤。

GI 13 第1の結合ドメインが一般項目3～12のいずれかで定義された形式から選択される形式を有し、第2の結合ドメインが一般項目3～12のいずれかで定義された形式から選択される異なる形式を有する、一般項目1の二重特異性結合剤。 20

GI 14 2環式ペプチドである、一般項目1の二重特異性結合剤。

GI 15 少なくとも1つの一般項目1～14のいずれかの二重特異性結合剤を含む、薬学的組成物。

GI 16 形質細胞障害またはBCMA発現と相關する他のB細胞障害の処置のためおよび自己免疫疾患の処置のための、一般項目1～14のいずれかの二重特異性結合剤および一般項目14の薬学的組成物。

GI 17 形質細胞腫、形質細胞性白血病、多発性骨髄腫、マクログロブリン血症、アミロイドーシス、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性骨形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の单クローニンググロブリン血症、くすぶり型多発性骨髄腫から選択される形質細胞障害の処置のための、一般項目1～14のいずれかの二重特異性結合剤および一般項目15の薬学的組成物。 30

上記項目のバリエーションはEP-Nr. 10 191 418.2から導き出すことができ、それらも本発明に含まれる。

【0137】

詳細な説明

本発明は、具体的に、以下のようにグループ分けされる結合分子のグループに関する。上記の定義、態様および／または局面は、以下の結合分子のグループに適用され得る。

【0138】

第1の結合分子グループ(A)

第1の結合分子グループは、第1の結合ドメインがBCMAのエピトープクラスター3およびエピトープクラスター4に結合でき、第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合できる、第1および第2の結合ドメインを含む。

【0139】

したがって、第1の局面において、本発明は、第1および第2の結合ドメインを含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって、ここで、

(a) 第1の結合ドメインがBCMAのエピトープクラスター3およびエピトープクラスター4に結合でき、かつ、

(b) 第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合でき、

10

20

30

40

50

ここで、BCMAのエピトープクラスター3はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基24～41に対応し、BCMAのエピトープクラスター4はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基42～54に対応する、結合分子、を提供する。

【0140】

本発明の第1の結合ドメインがヒトBCMAのエピトープクラスター3(SEQ ID NO: 1016)および4(SEQ ID NO: 1019)に同時に結合できることも想定されている。

【0141】

さらなる局面において、本発明の結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 1015に示されるBCMAのキメラ細胞外ドメインに結合できない。別の言い方をすると、エピトープクラスターE7、またはより具体的にはSEQ ID NO: 1002のアミノ酸残基39(アルギニン)は、BCMAに対する第1の結合ドメインの結合において重要な抗原的役割を果たしている。
このアミノ酸が、好ましくは非保存的置換、例えばプロリンまたはアラニンとの置換によって、別のアミノ酸と交換される場合、本発明の結合分子の第1の結合ドメインは、もはやBCMAの細胞外ドメインと結合できない。

10

【0142】

「結合できない」という用語は、本発明の結合分子の第1の結合ドメインが、例えばSEQ ID NO: 1015に示される、ヒト／マウスキメラBCMAに結合しない、すなわち、例えばSEQ ID NO: 1015に示される、ヒト／マウスキメラBCMAに対して、好ましくは付属の実施例Aで適用された条件下で、30%超、好ましくは20%超、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、7%、6%または5%超の反応性を示さないことを意味する。

20

【0143】

1つの局面において、本発明の第1の結合ドメインは、ヒトBCMA、好ましくはヒトBCMA E CDのエピトープクラスター3および4に結合できる。したがって、ヒトBCMAタンパク質中の各エピトープクラスターがマウスBCMA抗原の各エピトープクラスターと交換される（それによって、ヒトエピトープクラスター3および／または4が各マウスエピトープクラスターで置き換えられたヒトBCMAを含む構築物が形成される；例として、それぞれ、SEQ ID NO: 1011および1012を参照のこと）場合、結合ドメインの結合の減少が起こり得る。その減少は、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターに対する結合を100%として、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターとの比較で、好ましくは、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%；より好ましくは、少なくとも60%、70%、80%、90%、95%であり、または100%でさえある。上記のヒトBCMA／マウスBCMAキメラをCHO細胞において発現させることが想定されている。ヒトBCMA／マウスBCMAキメラの少なくとも1つ、好ましくはマウスE3／ヒトBCMAキメラ、を異なる膜結合タンパク質、例えばEpcAM、の膜貫通ドメインおよび／または細胞質ドメインと融合させることも想定されている；図2aを参照のこと。

30

この、非ヒト（例えば、マウス）BCMA抗原の各エピトープクラスターとの交換に起因する結合の喪失を試験する方法は、付属の実施例A、特に実施例A1～A3に記載されている。所定の結合分子または結合ドメインによる認識に対する標的抗原の特定の残基の寄与を決定するためのさらなる方法は、分析したい各残基を例えば部位特異的変異誘発を通じてアラニンで置き換えるアラニンスキャニング（例えば、Morrison KL & Weiss GA. Cur Opin Chem Biol. 2001 Jun; 5(3): 302-7を参照のこと）である。アラニンが使用される理由は、かさ高くなく、化学的に不活性であり、にもかかわらず多くの他のアミノ酸が有している参考2次構造を模倣するメチル官能基を有しているため、である。ときどき、変異させる残基のサイズを保存することが望まれる例では、かさ高いアミノ酸、例えばバリンまたはロイシンが使用され得る。アラニンスキャニングは、長きにわたり使用されている成熟した技術である。

40

1つの局面において、本発明の第1の結合ドメインは、ヒトBCMAのエピトープクラスター3および4に結合し、さらにマカクBCMA、好ましくはマカクBCMAのエピトープクラスター3および／または4（それぞれ、SEQ ID NO: 1020および1021）、例えばマカカ・ムラタ（Macaca mulatta）またはマカカ・ファシキュラリス（Macaca fascicularis）由来のもの、

50

に結合できる。第1の結合ドメインがマウスBCMAに結合することも結合しないことも想定されている。

【0144】

したがって、1つの態様において、ヒトBCMA、特にSEQ ID NO: 1002に示されるヒト配列のアミノ酸残基24～41および42～54によって形成されるBCMAの細胞外タンパク質ドメインの、それぞれ、エピトープクラスター3および4に結合する結合ドメインはまた、マカクBCMA、特にSEQ ID NO: 1006に示されるマカクBCMA配列のアミノ酸残基24～41および42～54によって形成されるBCMAの細胞外タンパク質ドメインの、それぞれ、エピトープクラスター3および／または4にも結合する。

【0145】

1つの態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、BCMAのエピトープクラスター3および4に結合でき、BCMAのエピトープクラスター3および4は、SEQ ID NO: 1002(ヒトBCMA全長ポリペプチド)またはSEQ ID NO: 1007(ヒトBCMA細胞外ドメイン:SEQ ID NO: 1002のアミノ酸1～54)に示される配列の、それぞれ、アミノ酸残基24～40および41～53に対応する。

【0146】

本発明の1つの局面において、結合分子の第1の結合ドメインは、付加的にまたは代替的に、コモンマーモセット(*Callithrix jacchus*)、ワタボウシタマリン(*Saguinus oedipus*)および／またはコモンリスザル(*Saimiri sciureus*)のBCMAのエピトープクラスター3および／または4に結合できる。

【0147】

ヒトBCMAに対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは40nM、より好ましくは35nM、15nM、または10nM、さらにより好ましくは5nM、さらにより好ましくは1nM、さらにより好ましくは0.5nM、さらにより好ましくは0.1nM、そして最も好ましくは0.05nMである。マカクBCMAに対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは15nM、より好ましくは10nM、さらにより好ましくは5nM、さらにより好ましくは1nM、さらにより好ましくは0.5nM、さらにより好ましくは0.1nM、そして最も好ましくは0.05nMであり0.01nMでさえある。親和性は、例えば、例えば実施例に記載されるような、BiacoreアッセイにおいてまたはScatchardアッセイにおいて測定することができる。マカクBCMAへの結合対ヒトBCMAへの結合の親和性ギャップは、好ましくは[1:10～1:5]または[5:1～10:1]、より好ましくは[1:5～5:1]、そして最も好ましくは[1:2～3:1]であり[1:1～3:1]でさえある。親和性を決定する他の方法は、当業者に周知である。

【0148】

BCMA/CD3二重特異性結合分子によって媒介される細胞毒性は、様々な方法で測定することができる。エフェクター細胞は、例えば、刺激され濃縮された(ヒト)CD8陽性T細胞または未刺激の(ヒト)末梢血単核細胞(PBMC)であり得る。標的細胞がマカク起源であるまたはマカクBCMAを発現するもしくはマカクBCMAでトランスフェクトされている場合、エフェクター細胞もまた、マカク起源、例えばマカクT細胞株、例えば4119LnPxであるべきである。標的細胞は、BCMA、例えばヒトまたはマカクBCMA(の少なくとも細胞外ドメイン)を発現するものであるべきである。標的細胞は、BCMA、例えばヒトまたはマカクBCMAで安定的または一過的にトランスフェクトされた細胞株(例えば、CHO)であり得る。あるいは、標的細胞は、BCMA陽性の天然発現細胞株、例えばヒト多発性骨髄腫細胞株L363またはNCI-H929であり得る。通常、EC50値は、その細胞表面上に高レベルのBCMAを発現する標的細胞株に対して低くなると考えられる。エフェクター対標的細胞(E:T)比は、通常、約10:1であるが、これは変更することもできる。BCMA/CD3二重特異性結合分子の細胞毒性活性は、51クロム放出アッセイ(インキュベート時間約18時間)においてまたはFACSベースの細胞毒性アッセイ(インキュベート時間約48時間)において測定することができる。アッセイのインキュベート時間(細胞毒性反応)は変更することも可能である。細胞毒性を測定する他の方法は、当業者に周知であり、生物発光アッセイ、スルホローダミンB(SRB)アッセイ、WSTアッセイ、クローン形成アッセイおよびECIS技術を含む、MTTまた

10

20

30

40

50

はMTSアッセイ、ATPベースのアッセイを含む。

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子によって媒介される細胞毒性活性は、好ましくは、細胞ベースの細胞毒性アッセイにおいて測定される。それは、半数効果濃度（ベースラインと最大の中間の細胞毒性反応を誘導する結合分子の濃度）に対応するEC₅₀値によって表される。好ましくは、BCMA/CD3二重特異性結合分子のEC₅₀値は、20.000 pg/ml、より好ましくは5000 pg/ml、さらにより好ましくは1000 pg/ml、さらにより好ましくは500 pg/ml、さらにより好ましくは250 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/ml、さらにより好ましくは50 pg/ml、さらにより好ましくは10 pg/ml、そして最も好ましくは5 pg/mlである。

【0149】

10

上記のEC₅₀値はいずれも、細胞ベースの細胞毒性アッセイの示されたシナリオの任意の一つと組み合わされ得る。例えば、(ヒト)CD8陽性T細胞またはマカクT細胞株がエフェクター細胞として使用される場合、BCMA/CD3二重特異性結合分子のEC₅₀値は、好ましくは1000 pg/ml、より好ましくは500 pg/ml、さらにより好ましくは250 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/ml、さらにより好ましくは50 pg/ml、さらにより好ましくは10 pg/ml、そして最も好ましくは5 pg/mlである。このアッセイにおいて標的細胞が(ヒトまたはマカク)BCMAトランスフェクト細胞、例えばCHO細胞である場合、BCMA/CD3二重特異性結合分子のEC₅₀値は、好ましくは150 pg/ml、より好ましくは100 pg/ml、さらにより好ましくは50 pg/ml、さらにより好ましくは30 pg/ml、さらにより好ましくは10 pg/ml、そして最も好ましくは5 pg/mlである。標的細胞がBCMA陽性天然発現細胞株である場合、EC₅₀値は、好ましくは250 pg/ml、さらにより好ましくは200 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/ml、さらにより好ましくは150 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/ml、そして最も好ましくは50 pg/mlまたはそれ未満である。(ヒト)PBMCがエフェクター細胞として使用される場合、BCMA/CD3二重特異性結合分子のEC₅₀値は、好ましくは1000 pg/ml、より好ましくは750 pg/ml、より好ましくは500 pg/ml、さらにより好ましくは250 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/ml、そして最も好ましくは50 pg/mlまたはそれ未満である。

20

【0150】

30

個々のBCMA/CD3二重特異性結合分子(例えば、抗体)の単量体アイソフォームと2量体アイソフォームの間の細胞毒性活性の差は、「効力ギャップ」と称される。この効力ギャップは、例えば、その分子の単量体のEC₅₀値と2量体のEC₅₀値の間の比として算出され得る。本発明の試験されたBCMA/CD3二重特異性結合分子の効力ギャップは、好ましくは5、より好ましくは4、さらにより好ましくは3、さらにより好ましくは2そして最も好ましくは1である。

【0151】

30

好ましくは、本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子は、ヒトBAFF-Rおよび/またはヒトTACIに結合もせずそれらと交差反応もしない。ヒトBAFF-Rおよび/またはヒトTACIとの交差反応を検出する方法は、実施例A9に開示されている。

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子が、3回の凍結/解凍サイクルの後に、1.5%に等しいまたは未満の、好ましくは0.8%に等しいまたは未満の2量体率を有することも好ましい。凍結・解凍サイクルおよび2量体率の決定は、実施例A16にしたがい実施することができる。

40

【0152】

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子(例えば、抗体)は、好ましくは、60を超える、より好ましくは62～63の融解温度の、良好な熱安定性を示す(実施例A17を参照のこと)。

【0153】

50

BCMA/CD3二重特異性結合分子(例えば、抗体)とヒト血漿タンパク質の潜在的相互作用を決定するため、血漿干渉試験を実施することができる(例えば、実施例A18を参照のこと)。好ましい態様において、血漿タンパク質により媒介されるBCMA/CD3二重特異性結合

分子の標的結合の減少は、有意なものではない。相対血漿干渉値は、好ましくは 2である。

【 0 1 5 4 】

1つの態様において、本発明の結合分子の第1の結合ドメインは：

(a) SEQ ID NO: 231に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 232に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 233に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 234に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 235に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 236に示されるCDR-L3；

(b) SEQ ID NO: 241に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 242に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 243に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 244に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 245に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 246に示されるCDR-L3；

(c) SEQ ID NO: 251に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 252に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 253に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 254に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 255に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 256に示されるCDR-L3；

(d) SEQ ID NO: 261に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 262に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 263に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 264に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 265に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 266に示されるCDR-L3；

(e) SEQ ID NO: 271に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 272に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 273に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 274に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 275に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 276に示されるCDR-L3；

(f) SEQ ID NO: 281に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 282に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 283に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 284に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 285に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 286に示されるCDR-L3；

(g) SEQ ID NO: 291に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 292に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 293に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 294に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 295に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 296に示されるCDR-L3；

(h) SEQ ID NO: 301に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 302に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 303に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 304に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 305に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 306に示されるCDR-L3；

(i) SEQ ID NO: 391に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 392に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 393に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 394に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 395に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 396に示されるCDR-L3；

(k) SEQ ID NO: 401に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 402に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 403に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 404に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 405に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 406に示されるCDR-L3；

(l) SEQ ID NO: 411に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 412に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 413に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 414に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 415に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 416に示されるCDR-L3；

(m) SEQ ID NO: 421に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 422に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 423に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 424に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 425に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 426に示されるCDR-L3；

(n) SEQ ID NO: 431に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 432に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 433に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 434に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 435に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 436に示されるCDR-L3；

(o) SEQ ID NO: 441に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 442に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 443に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 444に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 445に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 446に示されるCDR-L3；

(p) SEQ ID NO: 451に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 452に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 453に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 454に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 455に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 456に示されるCDR-L3；

(q) SEQ ID NO: 461に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 462に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 50

463に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 464に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 465に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 466に示されるCDR-L3；

(r) SEQ ID NO: 471に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 472に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 473に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 474に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 475に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 476に示されるCDR-L3；

(s) SEQ ID NO: 481に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 482に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 483に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 484に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 485に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 486に示されるCDR-L3；

(t) SEQ ID NO: 491に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 492に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 493に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 494に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 495に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 496に示されるCDR-L3；ならびに 10

(u) SEQ ID NO: 501に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 502に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 503に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 504に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 505に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 506に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む。

【0155】

さらに別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 237、SEQ ID NO: 247、SEQ ID NO: 257、SEQ ID NO: 267、SEQ ID NO: 277、SEQ ID NO: 287、SEQ ID NO: 297、SEQ ID NO: 307、SEQ ID NO: 397、SEQ ID NO: 407、SEQ ID NO: 417、SEQ ID NO: 427、SEQ ID NO: 437、SEQ ID NO: 447、SEQ ID NO: 457、SEQ ID NO: 467、SEQ ID NO: 477、SEQ ID NO: 487、SEQ ID NO: 497およびSEQ ID NO: 507に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む。 20

【0156】

別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 238、SEQ ID NO: 248、SEQ ID NO: 258、SEQ ID NO: 268、SEQ ID NO: 278、SEQ ID NO: 288、SEQ ID NO: 298、SEQ ID NO: 308、SEQ ID NO: 398、SEQ ID NO: 408、SEQ ID NO: 418、SEQ ID NO: 428、SEQ ID NO: 438、SEQ ID NO: 448、SEQ ID NO: 458、SEQ ID NO: 468、SEQ ID NO: 478、SEQ ID NO: 488、SEQ ID NO: 498およびSEQ ID NO: 508に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む。 30

【0157】

1つの態様において、結合分子の第1の結合ドメインは：

(a) SEQ ID NO: 237に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 238に示されるVL領域；

(b) SEQ ID NO: 247に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 248に示されるVL領域；

(c) SEQ ID NO: 257に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 258に示されるVL領域；

(d) SEQ ID NO: 267に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 268に示されるVL領域；

(e) SEQ ID NO: 277に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 278に示されるVL領域；

(f) SEQ ID NO: 287に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 288に示されるVL領域；

(g) SEQ ID NO: 297に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 298に示されるVL領域；

(h) SEQ ID NO: 307に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 308に示されるVL領域； 40

(i) SEQ ID NO: 397に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 398に示されるVL領域；

(k) SEQ ID NO: 407に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 408に示されるVL領域；

(l) SEQ ID NO: 417に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 418に示されるVL領域；

(m) SEQ ID NO: 427に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 428に示されるVL領域；

(n) SEQ ID NO: 437に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 438に示されるVL領域；

(o) SEQ ID NO: 447に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 448に示されるVL領域；

(p) SEQ ID NO: 457に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 458に示されるVL領域；

(q) SEQ ID NO: 467に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 468に示されるVL領域；

(r) SEQ ID NO: 477に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 478に示されるVL領域；

(s) SEQ ID NO: 487に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 488に示されるVL領域； 50

(t) SEQ ID NO: 497に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 498に示されるVL領域；ならびに

(u) SEQ ID NO: 507に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 508に示されるVL領域からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む。

【0158】

1つの例において、第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 239、SEQ ID NO: 249、SEQ ID N
O: 259、SEQ ID NO: 269、SEQ ID NO: 279、SEQ ID NO: 289、SEQ ID NO: 299、SEQ ID N
O: 309、SEQ ID NO: 399、SEQ ID NO: 409、SEQ ID NO: 419、SEQ ID NO: 429、SEQ ID N
O: 439、SEQ ID NO: 449、SEQ ID NO: 459、SEQ ID NO: 469、SEQ ID NO: 479、SEQ ID N
O: 489、SEQ ID NO: 499およびSEQ ID NO: 509からなる群より選択されるアミノ酸配列を 10
含む。

【0159】

好ましいCDR-H1は、アミノ酸配列DYYINで示される。好ましいCDR-H2は、アミノ酸配列
WIYFASGNSEYNQKFTG

で示される。好ましいCDR-H3は、アミノ酸配列
LYDYDWYFDV

で示される。好ましいCDR-L1は、アミノ酸配列
KSSQSLVHSNGNTYLH

で示される。好ましいCDR-L2は、アミノ酸配列KVSNRFSで示される。好ましいCDR-L2は、
アミノ酸配列 20

AETSHVPWTまたはSQSSIYPWT

で示される。

【0160】

SEQ ID NO: 300に示されるアミノ酸配列を有する結合分子が好ましい。SEQ ID NO: 500
に示されるアミノ酸配列を有する結合分子も好ましい。

【0161】

さらに、本発明は、BCMA、好ましくはヒトBCMAに結合できる結合分子、好ましくは抗体
を生成するための、BCMA、好ましくはヒトBCMAのエピトープクラスター3および4の使用に
関する。BCMAのエピトープクラスター3および4は、好ましくは、SEQ ID NO: 1002に示さ
れる配列のアミノ酸残基24～41および42～54にそれぞれ対応する。 30

【0162】

加えて、本発明は、BCMA、好ましくはヒトBCMAに結合できる抗体、好ましくは二重特異
性結合分子を生成する方法であって、

(a) BCMA、好ましくはヒトBCMAのエピトープクラスター3および4を含むポリペプチドで
動物を免疫する工程であって、BCMAのエピトープクラスター3および4がSEQ ID NO: 1002
に示される配列のアミノ酸残基24～41および42～54に対応する、工程、

(b) 該抗体を得る工程、ならびに

(c) 任意で、該抗体を、ヒトBCMAおよび好ましくはT細胞CD3受容体複合体に結合できる
二重特異性結合分子に変換する工程
を含む方法を提供する。 40

好ましくは、工程(b)は、得られた抗体を以下のように試験することを含む：ヒトBCM
Aタンパク質の各エピトープクラスターがマウスBCMA抗原の各エピトープクラスターと交
換されている（それによって、ヒトエピトープクラスター3および/または4がそれぞれの
マウスエピトープクラスターで置き換えられたヒトBCMAを含む構築物が生成される）場合
、抗体結合の減少が起こり得る。その減少は、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラス
ターとの比較で、好ましくは少なくとも10%、20%、30%、40%、50%であり；より好ま
しくは少なくとも60%、70%、80%、90%、95%でありまたは100%でさえある。上記のヒ
トBCMA / マウスBCMAキメラをCHO細胞において発現させることが想定されている。ヒトBCM
A / マウスBCMAキメラの少なくとも一方を異なる膜結合タンパク質、例えばEpCAMの膜貫通 50

ドメインおよび／または細胞質ドメインと融合させることも想定されている；図2aを参照のこと。この、非ヒト（例えば、マウス）BCMA抗原の各エピトープクラスターとの交換に起因する結合の喪失を試験する方法は、以下の実施例A、特に実施例A1～A3に記載されている。

【0163】

この方法はさらに、抗体がヒトBCMAのエピトープクラスター3および4に結合し、さらにマカクBCMA、例えばマカカ・ムラタまたはマカカ・ファシキュラリス（SEQ ID NO: 1017および121）由来のBCMA、のエピトープクラスター3および／または4に結合できるかどうかを試験することを含み得る。

【0164】

第2の結合分子グループ（B）

第2の結合分子グループは、第1および第2の結合ドメインを含み、第1の結合ドメインがヒトBCMAの細胞外ドメインおよびマウスBCMAの細胞外ドメインに結合でき、第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合できる、二重特異性結合分子に関する。

【0165】

したがって、本発明の第2のグループの第1の局面は、第1および第2の結合ドメインを含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって、ここで、

(a) 第1の結合ドメインがヒトBCMAの細胞外ドメインおよびマウスBCMAの細胞外ドメインに結合でき、かつ、

(b) 第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合でき、

ここで、ヒトBCMAの細胞外ドメインはSEQ ID NO: 1007に示されるアミノ酸配列に対応し、マウスBCMAの細胞外ドメインはSEQ ID NO: 1008に示されるアミノ酸配列に対応する、結合分子、を提供する。

【0166】

第1の結合ドメインは、ヒトBCMAの細胞外ドメインおよびマウスBCMAの細胞外ドメインに結合できる。ヒトBCMAの細胞外ドメイン（SEQ ID NO: 1007に示されるアミノ酸配列）は、SEQ ID NO: 1002に示されるヒトBCMA全長ポリペプチドのアミノ酸残基1～54に対応する。マウスBCMAの細胞外ドメイン（SEQ ID NO: 1008に示されるアミノ酸配列）は、SEQ ID NO: 1004に示されるマウスBCMA全長ポリペプチドのアミノ酸残基1～49に対応する。

【0167】

1つの局面において、本発明の第1の結合ドメインはさらに、マカクBCMA、例えば、マカカ・ムラタ（SEQ ID NO: 1017）またはマカカ・ファシキュラリス（SEQ ID NO: 1017）由来のBCMA、に結合する。

【0168】

本発明の1つの局面において、結合分子の第1の結合ドメインは、付加的にまたは代替的に、コモンマーモセット、ワタボウシタマリンおよび／またはコモンリスザルのBCMAに結合できる。

【0169】

ヒトBCMAに対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは 15nM、より好ましくは 10nM、さらにより好ましくは 5nM、最も好ましくは 1nMである。

【0170】

1つの態様において、本発明の結合分子の第1の結合ドメインは：

(a) SEQ ID NO: 81に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 82に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 83に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 84に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 85に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 86に示されるCDR-L3；

(b) SEQ ID NO: 91に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 92に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 93に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 94に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 95に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 96に示されるCDR-L3；

(c) SEQ ID NO: 101に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 102に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 103に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 104に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 105に示されるCDR

10

20

30

40

50

-L2およびSEQ ID NO: 106に示されるCDR-L3；

(d) SEQ ID NO: 111に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 112に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 113に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 114に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 115に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 116に示されるCDR-L3；

(e) SEQ ID NO: 121に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 122に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 123に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 124に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 125に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 126に示されるCDR-L3；

(f) SEQ ID NO: 131に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 132に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 133に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 134に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 135に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 136に示されるCDR-L3；

(g) SEQ ID NO: 141に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 142に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 143に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 144に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 145に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 146に示されるCDR-L3；ならびに

(h) SEQ ID NO: 151に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 152に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 153に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 154に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 155に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 156に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む。

【0171】

さらに別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 117、SEQ ID NO: 127、SEQ ID NO: 137、SEQ ID NO: 147およびSEQ ID NO: 157に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む。

【0172】

別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 118、SEQ ID NO: 128、SEQ ID NO: 138、SEQ ID NO: 148およびSEQ ID NO: 158に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む。

【0173】

1つの態様において、結合分子の第1の結合ドメインは：

(a) SEQ ID NO: 87に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 88に示されるVL領域；

(b) SEQ ID NO: 97に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 98に示されるVL領域；

(c) SEQ ID NO: 107に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 108に示されるVL領域；

(d) SEQ ID NO: 117に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 118に示されるVL領域；

(e) SEQ ID NO: 127に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 128に示されるVL領域；

(f) SEQ ID NO: 137に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 138に示されるVL領域；

(g) SEQ ID NO: 147に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 148に示されるVL領域；ならびに

(h) SEQ ID NO: 157に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 158に示されるVL領域からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む。

【0174】

1つの例において、第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 119、SEQ ID NO: 129、SEQ ID NO: 139、SEQ ID NO: 149およびSEQ ID NO: 159からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0175】

第2の結合分子グループはまた以下の項目に関連する：

1. 第1および第2の結合ドメインを含む結合分子であって、ここで、

(a) 第1の結合ドメインがヒトBCMAの細胞外ドメインおよびマウスBCMAの細胞外ドメインに結合でき、かつ、

(b) 第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合でき、

ここで、ヒトBCMAの細胞外ドメインはSEQ ID NO: 1007に示されるアミノ酸配列に対応し、マウスBCMAの細胞外ドメインはSEQ ID NO: 1008に示されるアミノ酸配列に対応する、

10

20

30

40

50

結合分子。

2. 第1の結合ドメインが、マカクBCMAにさらに結合できる、項目1の結合分子。
3. 第2の結合ドメインが、CD3イプシロン、好ましくはヒトCD3イプシロンに結合できる、項目1または2の結合分子。
4. 第1および／または第2の結合ドメインが抗体由来である、項目1～3のいずれかの結合分子。

5. (scFv)₂、(單一ドメインmAb)₂、scFv-單一ドメインmAb、ダイアボディおよびこれらのオリゴマーからなる群より選択される、項目4の結合分子。

6. 第1の結合ドメインが、

(a) SEQ ID NO: 81に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 82に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 83 10
に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 84に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 85に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 86に示されるCDR-L3；

(b) SEQ ID NO: 91に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 92に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 93
に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 94に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 95に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 96に示されるCDR-L3；

(c) SEQ ID NO: 101に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 102に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
103に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 104に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 105に示されるCDR- 10
-L2およびSEQ ID NO: 106に示されるCDR-L3；

(d) SEQ ID NO: 111に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 112に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
113に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 114に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 115に示されるCDR- 20
-L2およびSEQ ID NO: 116に示されるCDR-L3；

(e) SEQ ID NO: 121に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 122に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
123に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 124に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 125に示されるCDR- 20
-L2およびSEQ ID NO: 126に示されるCDR-L3；

(f) SEQ ID NO: 131に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 132に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
133に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 134に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 135に示されるCDR- 20
-L2およびSEQ ID NO: 136に示されるCDR-L3；

(g) SEQ ID NO: 141に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 142に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
143に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 144に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 145に示されるCDR- 30
-L2およびSEQ ID NO: 146に示されるCDR-L3；ならびに

(h) SEQ ID NO: 151に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 152に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:
153に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 154に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 155に示されるCDR- 30
-L2およびSEQ ID NO: 156に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CD
R-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

7. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO:
: 117、SEQ ID NO: 127、SEQ ID NO: 137、SEQ ID NO: 147およびSEQ ID NO: 157に示さ
れるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

8. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO:
: 118、SEQ ID NO: 128、SEQ ID NO: 138、SEQ ID NO: 148およびSEQ ID NO: 158に示さ
れるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。 40

9. 第1の結合ドメインが、

(a) SEQ ID NO: 87に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 88に示されるVL領域；

(b) SEQ ID NO: 97に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 98に示されるVL領域；

(c) SEQ ID NO: 107に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 108に示されるVL領域；

(d) SEQ ID NO: 117に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 118に示されるVL領域；

(e) SEQ ID NO: 127に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 128に示されるVL領域；

(f) SEQ ID NO: 137に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 138に示されるVL領域；

(g) SEQ ID NO: 147に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 148に示されるVL領域；ならび
に

50

20

30

40

50

(h) SEQ ID NO: 157に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 158に示されるVL領域

からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

10. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 119、SEQ ID NO: 129、SEQ ID NO: 139、SEQ ID NO: 149およびSEQ ID NO: 159からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目9の結合分子。

11. 項目1～10のいずれかの結合分子をコードする、核酸配列。

12. 項目11の核酸配列を含む、ベクター。

13. 項目11の核酸配列または項目12のベクターで形質転換またはトランスフェクトされた、宿主細胞。

14. 項目1～10のいずれかの結合分子の発現を可能にする条件下で項目13の宿主細胞を培養する工程、および、產生された結合分子を培養物から回収する工程を含む、項目1～10のいずれかの結合分子の製造プロセス。 10

15. 項目1～10のいずれかの結合分子または項目14のプロセスによって製造された結合分子を含む、薬学的組成物。

16. 形質細胞障害、BCMA発現と相關する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の予防、処置または寛解において使用するための、項目1～10のいずれかの結合分子または項目14のプロセスによって製造された結合分子。

17. 形質細胞障害、BCMA発現と相關する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の処置または寛解のための方法であって、それを必要とする対象に項目1～10のいずれかの結合分子または項目14のプロセスによって製造された結合分子を投与する工程を含む、方法。 20

18. 形質細胞障害が、多発性骨髄腫、形質細胞腫、形質細胞性白血病、マクログロブリン血症、アミロイドーシス、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性骨形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローニンググロブリン血症、およびくすぶり型多発性骨髄腫からなる群より選択される、項目17の方法。

19. 自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデスまたは関節リウマチである、項目17の方法。

20. 項目1～10のいずれかの結合分子、項目11の核酸分子、項目12のベクターまたは項目13の宿主細胞を含む、キット。

【 0 1 7 6 】

30

第3の結合分子グループ(C)

本発明の第3の結合分子グループは、第1および第2の結合ドメインを含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって、第1の結合ドメインがBCMAのエピトープクラスター1および4に結合でき、第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合できる、結合分子、に関する。

【 0 1 7 7 】

40

したがって、第1の局面において、本発明は、第1および第2の結合ドメインを含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって、

(a) 第1の結合ドメインがBCMAのエピトープクラスター1

(MLQMAGQQ) (SEQ ID NO: 1018)

および4

(NASVTNSVKGTNA) (SEQ ID NO: 1019)

に結合でき、かつ、

(b) 第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合でき、

ここで、BCMAのエピトープクラスター1はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基1～7に対応し、BCMAのエピトープクラスター4はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基42～54に対応する、結合分子、を提供する。

本発明の第1の結合ドメインがヒトBCMAのエピトープクラスター1および4に同時に結合できることも、想定されている。

【 0 1 7 8 】

50

1つの局面において、本発明の第1の結合ドメインは、ヒトBCMA、好ましくはヒトBCMA E CDのエピトープクラスター1および4に結合できる。したがって、ヒトBCMAタンパク質中の各エピトープクラスターがマウスBCMA抗原の各エピトープクラスターと交換される（それによって、ヒトエピトープクラスター1および／または4が各マウスエピトープクラスターで置き換えられたヒトBCMAを含む構築物が形成される；例として、それぞれ、SEQ ID NO: 1009および1012を参照のこと）場合、結合ドメインの結合の減少が起こり得る。その減少は、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターに対する結合を100%として、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターとの比較で、好ましくは、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%；より好ましくは、少なくとも60%、70%、80%、90%、95%であり、または100%でさえある。上記のヒトBCMA／マウスBCMAキメラをCHO細胞において発現させることが想定されている。ヒトBCMA／マウスBCMAキメラの少なくとも1つ、好ましくはマウスE1／ヒトBCMAキメラ、を異なる膜結合タンパク質、例えばEpcAM、の膜貫通ドメインおよび／または細胞質ドメインと融合させることも想定されている；図2aを参照のこと。
10

この、非ヒト（例えば、マウス）BCMA抗原の各エピトープクラスターとの交換に起因する結合の喪失を試験する方法は、付属の実施例、特に実施例C1～3に記載されている。

【0179】

1つの局面において、本発明の第1の結合ドメインは、ヒトBCMAのエピトープクラスター1および4に結合し、さらにマカクBCMAのエピトープクラスター1および／または4（それぞれ、SEQ ID NO: 1020および1021）、例えばマカカ・ムラタまたはマカカ・ファシキュラリス由来のもの、に結合できる。第1の結合ドメインがマウスBCMAに結合しないことも想定されている。
20

【0180】

したがって、1つの態様において、ヒトBCMA、特にSEQ ID NO: 1002に示されるヒト配列のアミノ酸残基1～7および42～54によって形成されるBCMAの細胞外タンパク質ドメインの、それぞれ、エピトープクラスター1および4に結合する結合ドメインはまた、マカクBCMA、特にSEQ ID NO: 1006に示されるマカクBCMA配列のアミノ酸残基1～7および41～53によって形成されるBCMAの細胞外タンパク質ドメインの、それぞれ、エピトープクラスター1および／または4にも結合する。

1つの態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、BCMAのエピトープクラスター1および4に結合でき、BCMAのエピトープクラスター1および4は、SEQ ID NO: 1002（ヒトBCMA全長ポリペプチド）またはSEQ ID NO: 1007（ヒトBCMA細胞外ドメイン：SEQ ID NO: 1002のアミノ酸1～54）に示される配列の、それぞれ、アミノ酸残基1～7および42～54に対応する。
30

本発明の1つの局面において、結合分子の第1の結合ドメインは、付加的にまたは代替的に、コモンマーモセット、ワタボウシタマリンおよび／またはコモンリスザルのBCMAのエピトープクラスター1および／または4に結合できる。

【0181】

ヒトBCMAに対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは 15nM、より好ましくは 10nM、さらにより好ましくは 5nM、最も好ましくは 1nMである。
40

【0182】

1つの態様において、本発明の結合分子の第1の結合ドメインは：
 (a) SEQ ID NO: 511に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 512に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 513に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 514に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 515に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 516に示されるCDR-L3；
 (b) SEQ ID NO: 521に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 522に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 523に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 524に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 525に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 526に示されるCDR-L3；
 (c) SEQ ID NO: 531に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 532に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 533に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 534に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 535に示されるCDR
50

-L2およびSEQ ID NO: 536に示されるCDR-L3；

(d) SEQ ID NO: 541に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 542に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 543に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 544に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 545に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 546に示されるCDR-L3；

(e) SEQ ID NO: 551に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 552に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 553に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 554に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 555に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 556に示されるCDR-L3；

(f) SEQ ID NO: 561に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 562に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 563に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 564に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 565に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 566に示されるCDR-L3；ならびに 10

(g) SEQ ID NO: 571に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 572に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 573に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 574に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 575に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 576に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む。

【0183】

さらに別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 517、SEQ ID NO: 527、SEQ ID NO: 537、SEQ ID NO: 547、SEQ ID NO: 557、SEQ ID NO: 567およびSEQ ID NO: 577に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む。 20

【0184】

別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 518、SEQ ID NO: 528、SEQ ID NO: 538、SEQ ID NO: 548、SEQ ID NO: 558、SEQ ID NO: 568およびSEQ ID NO: 578に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む。 20

【0185】

1つの態様において、結合分子の第1の結合ドメインは：

(a) SEQ ID NO: 517に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 518に示されるVL領域；

(b) SEQ ID NO: 527に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 528に示されるVL領域；

(c) SEQ ID NO: 537に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 538に示されるVL領域；

(d) SEQ ID NO: 547に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 548に示されるVL領域；

(e) SEQ ID NO: 557に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 558に示されるVL領域； 30

(f) SEQ ID NO: 567に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 568に示されるVL領域；ならびに

(g) SEQ ID NO: 577に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 578に示されるVL領域
からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む。

1つの例において、第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 519、SEQ ID NO: 529、SEQ ID NO: 539、SEQ ID NO: 549、SEQ ID NO: 559、SEQ ID NO: 569およびSEQ ID NO: 579からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。 40

さらに、本発明は、BCMA、好ましくはヒトBCMAに結合できる結合分子、好ましくは抗体の生成のための、BCMA、好ましくはヒトBCMAのエピトープクラスター1および4の使用に関する。BCMAのエピトープクラスター1および4は、好ましくは、SEQ ID NO: 1002に示される配列の、それぞれ、アミノ酸残基1～7および42～54に対応する。

【0186】

加えて、本発明は、BCMA、好ましくはヒトBCMAに結合できる抗体、好ましくは二重特異性結合分子を生成する方法であって、

(a) BCMA、好ましくはヒトBCMAのエピトープクラスター1および4を含むポリペプチドで動物を免疫する工程であって、BCMAのエピトープクラスター1および4がSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基1～7および42～54に対応する、工程、

(b) 該抗体を得る工程、ならびに

(c) 任意で、該抗体を、ヒトBCMAおよび好ましくはT細胞CD3受容体複合体に結合できる二重特異性結合分子に変換する工程 50

を含む方法を提供する。

好ましくは、工程 (b) は、得られた抗体を以下のように試験することを含む：ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターがマウスBCMA抗原の各エピトープクラスターと交換されている（それによってヒトエピトープクラスター1および / または4が各マウスエピトープクラスターで置き換えられたヒトBCMAを含む構築物が生成される）場合、抗体結合の減少が起こり得る。その減少は、ヒトBCMAタンパク質のエピトープクラスター1および4のそれぞれに対する結合を100%として、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターとの比較で、好ましくは少なくとも10%、20%、30%、40%、50%であり；より好ましくは少なくとも60%、70%、80%、90%、95%でありまたは100%でさえある。

【0187】

10

この方法はさらに、抗体がヒトBCMAのエピトープクラスター1および4に結合し、さらにマカクBCMAのエピトープクラスター1および / または4に結合できるかどうかを試験する工程を含み得る。

【0188】

第3の結合分子グループは、以下の項目にも関連する：

1. 第1および第2の結合ドメインを含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって、

(a) 第1の結合ドメインがBCMAのエピトープクラスター1

(MLQMAGQ)

20

および4

(NASVTNSVKGTNA)

に結合でき、かつ、

(b) 第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合でき、

ここで、BCMAのエピトープクラスター1はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基1~7に対応し、BCMAのエピトープクラスター4はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基42~54に対応する、結合分子。

2. 第1の結合ドメインが、マカクBCMAのエピトープクラスター1

(MLQMARQ)

30

および4

(NASMTNSVKGMNA)

にさらに結合できる、項目1の結合分子。

3. 第2の結合ドメインがCD3イプロシンに結合できる、項目1または2の結合分子。

4. 第2の結合ドメインがヒトCD3およびマカクCD3に結合できる、前記項目のいずれかの結合分子。

5. 第1および / または第2の結合ドメインが抗体由来である、前記項目のいずれかの結合分子。

6. (scFv)₂、(単一ドメインmAb)₂、scFv-単一ドメインmAb、ダイアボディおよびこれらのオリゴマーからなる群より選択される、項目5の結合分子。

7. 第1の結合ドメインが、

(a) SEQ ID NO: 511に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 512に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 513に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 514に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 515に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 516に示されるCDR-L3；

(b) SEQ ID NO: 521に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 522に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 523に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 524に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 525に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 526に示されるCDR-L3；

(c) SEQ ID NO: 531に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 532に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:

40

50

533に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 534に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 535に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 536に示されるCDR-L3；

(d) SEQ ID NO: 541に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 542に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 543に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 544に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 545に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 546に示されるCDR-L3；

(e) SEQ ID NO: 551に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 552に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 553に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 554に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 555に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 556に示されるCDR-L3；

(f) SEQ ID NO: 561に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 562に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 563に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 564に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 565に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 566に示されるCDR-L3；ならびに 10

(g) SEQ ID NO: 571に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 572に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 573に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 574に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 575に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 576に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

8. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 517、SEQ ID NO: 527、SEQ ID NO: 537、SEQ ID NO: 547、SEQ ID NO: 557、SEQ ID NO: 567およびSEQ ID NO: 577に示されるVH領域から 20
なる群より選択されるVH領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

9. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 518、SEQ ID NO: 528、SEQ ID NO: 538、SEQ ID NO: 548、SEQ ID NO: 558、SEQ ID NO: 568およびSEQ ID NO: 578に示されるVL領域から 20
なる群より選択されるVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

10. 第1の結合ドメインが、

(a) SEQ ID NO: 517に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 518に示されるVL領域；

(b) SEQ ID NO: 527に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 528に示されるVL領域；

(c) SEQ ID NO: 537に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 538に示されるVL領域；

(d) SEQ ID NO: 547に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 548に示されるVL領域；

(e) SEQ ID NO: 557に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 558に示されるVL領域；

(f) SEQ ID NO: 567に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 568に示されるVL領域；ならびに 30

(g) SEQ ID NO: 577に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 578に示されるVL領域

からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

11. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 519、SEQ ID NO: 529、SEQ ID NO: 539、SEQ ID NO: 549、SEQ ID NO: 559、SEQ ID NO: 569およびSEQ ID NO: 579からなる群より選択さ 40
れるアミノ酸配列を含む、項目10の結合分子。

12. 項目1～11のいずれかの結合分子をコードする、核酸配列。

13. 項目12の核酸配列を含む、ベクター。

14. 項目12の核酸配列または項目13のベクターで形質転換またはトランスフェクトされた、宿主細胞。

15. 項目1～11のいずれかの結合分子の発現を可能にする条件下で項目14の宿主細胞を培養する工程、および、產生された結合分子を培養物から回収する工程を含む、項目1～11のいずれかの結合分子の製造プロセス。 40

16. 項目1～11のいずれかの結合分子または項目15のプロセスによって製造された結合分子を含む、薬学的組成物。

17. 形質細胞障害、BCMA発現と相關する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の予防、処置または寛解において使用するための、項目1～11のいずれかの結合分子または項目15のプロセスによって製造された結合分子。

18. 形質細胞障害、BCMA発現と相關する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の処置または寛解のための方法であって、それを必要とする対象に項目1～11のいずれかの結合分子または項目15のプロセスによって製造された結合分子を投 50

とする工程を含む、方法。

19. 形質細胞障害が、多発性骨髄腫、形質細胞腫、形質細胞性白血病、マクログロブリン血症、アミロイドーシス、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性骨形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローニ性 グロブリン血症、およびくすぶり型多発性骨髄腫からなる群より選択される、項目18の方法。

20. 自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデスである、項目18の方法。

21. 項目1~11のいずれかの結合分子、項目12の核酸分子、項目13のベクター、および/または項目14の宿主細胞を含む、キット。

22. BCMAに結合できる結合分子、好ましくは抗体の生成のための、BCMAのエピトープクラスター1およびエピトープクラスター4の使用であって、BCMAのエピトープクラスター1はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基1~7に対応し、BCMAのエピトープクラスター4はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基42~54に対応する、10 使用。

23. BCMAに結合できる抗体、好ましくは二重特異性結合分子を生成する方法であって、(a) BCMAのエピトープクラスター1およびエピトープクラスター4を含むポリペプチドで動物を免疫する工程であって、BCMAのエピトープクラスター1はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基1~7に対応し、BCMAのエピトープクラスター4はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基42~54に対応する、工程、

(b) 該抗体を得る工程、ならびに

(c) 任意で、該抗体を、ヒトBCMAおよび好ましくはT細胞CD3受容体複合体に結合できる二重特異性結合分子に変換する工程20
を含む方法。

【0189】

第4の結合分子グループ(D)

本発明の第4の結合分子グループは、少なくとも第1および第2の結合ドメインを含む、二重特異性である結合分子であって、第1の結合ドメインがヒトBCMAの細胞外ドメインおよびヒトBCMA抗原のエピトープクラスターまたはアミノ酸を非ヒトBCMA抗原の各エピトープクラスターまたはアミノ酸と交換することによって生成されるBCMAの少なくとも1つのキメラ細胞外ドメインに結合でき、第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合できる、結合分子、に関する。

【0190】

したがって、第1の局面において、本発明は、第1および第2の結合ドメインを含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって、

(a) 第1の結合ドメインが、

(i) SEQ ID NO: 1007に示されるアミノ酸配列に対応するヒトBCMAの細胞外ドメイン、ならびに

(ii) SEQ ID NO: 1009、SEQ ID NO: 1010、SEQ ID NO: 1011、SEQ ID NO: 1012、SEQ ID NO: 1013、SEQ ID NO: 1014およびSEQ ID NO: 1015に示されるアミノ酸配列に対応するBCMAドメインからなる群より選択されるBCMAのキメラ細胞外ドメインの少なくとも1つ、

に結合でき、40

(b) 第2の結合ドメインが、T細胞CD3受容体複合体に結合できる、結合分子、を提供する。

【0191】

好ましい態様において、本明細書の(a)(ii)で定義される第1の結合ドメインは、少なくともSEQ ID NO: 1011に示されるBCMAのキメラ細胞外ドメインに結合できる。本発明にしたがう別の態様において、第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 1009、SEQ ID NO: 1010、SEQ ID NO: 1011、SEQ ID NO: 1012、SEQ ID NO: 1013、SEQ ID NO: 1014およびSEQ ID NO: 1015に示されるBCMAのキメラ細胞外ドメインのうちの2つ、3つ、4つ、5つ、6つまたはすべてに結合できる。この態様に関連して、1つまたは複数の他のキメラ細胞外ドメインと共にSEQ ID NO: 1011に示されるBCMAのキメラ細胞外ドメインに結合することが好ま50

しい。

【0192】

1つの局面において、本発明の第1の結合ドメインは、ヒトBCMA、好ましくはヒトBCMA ECDのエピトープクラスター1～7に結合できる。例えば、ヒトBCMAタンパク質中の各エピトープクラスターがマウスBCMA抗原の各エピトープクラスターと交換される（例えば、それによって例えばヒトエピトープクラスター1および／または4が各マウスエピトープクラスターで置き換えられたヒトBCMAを含む構築物が形成される；例として、それぞれ、SEQ ID NO: 1009および1012を参照のこと）場合も、この結合ドメインは依然として結合できる。

第1の結合ドメインが、ヒトBCMA ECD中に1つまたは複数の上記のマウスエピトープクラスターを各々の可能性のある組み合わせで含むキメラBCMA構築物に結合できることが、想定されている。例えば、ヒトBCMAタンパク質中の各エピトープクラスターがマウスBCMA抗原の各エピトープクラスターと交換される（例えば、それによって例えばヒトエピトープクラスター3が各マウスエピトープクラスターで置き換えられたヒトBCMAを含む構築物が形成される；例として、SEQ ID NO: 1011を参照のこと）場合も、この結合ドメインは依然として結合できる。ヒトBCMA ECD中の2つ以上のエピトープクラスターが各マウスエピトープクラスターによって置き換えられる場合、そのキメラ中の少なくとも1つのエピトープクラスターは依然としてヒトBCMA ECD由来であることが好ましく、好ましくは、エピトープクラスター1、2、3および4から選択される少なくとも1つ、2つ、3つまたは4つのエピトープクラスターがヒトBCMA ECD由来である。

【0193】

上記のヒトBCMA／マウスBCMAキメラをCHO細胞において発現させることが想定されている。ヒトBCMA／マウスBCMAキメラの少なくとも1つ、例えばマウスE1／ヒトBCMAキメラを異なる膜結合タンパク質、例えばEpCAM、の膜貫通ドメインおよび／または細胞質ドメインに融合させることも想定されている；図2aを参照のこと。

非ヒト（例えば、マウス）BCMA抗原の各エピトープクラスターとの交換に起因する結合を試験する方法は、付属の実施例、特に実施例D1～3に記載されている。

【0194】

1つの局面において、本発明にしたがう結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 1008に示されるアミノ酸配列に対応するマウスBCMAの細胞外ドメインに結合できないことが好ましい。

【0195】

「結合できない」という用語は、本発明の結合分子の第1の結合ドメインが、マウスBCMA（SEQ ID NO: 1008）に結合しない、すなわち、マウスBCMAに対して、好ましくは付属の実施例で適用された条件下で、30%超、好ましくは20%超、より好ましくは10%超、特に好ましくは9%、8%、7%、6%または5%超の反応性を示さないことを意味する。

【0196】

特異的な結合は、結合ドメインおよび抗原のアミノ酸配列内の特定のモチーフによってもたらされると考えられる。したがって、結合は、それらの1次、2次および／または3次構造の結果としてならびにこれらの構造の2次の修飾の結果として達成される。抗原相互作用部位とその特異的抗原との特異的相互作用は、抗原に対する該部位の単なる結合をもたらし得る。さらに、抗原相互作用部位とその特異的抗原との特異的相互作用は、代替的にまたは付加的に、例えば抗原の立体構造の変化の誘導、抗原のオリゴマー化等により、シグナルを開始させ得る。

【0197】

1つの局面において、本発明の第1の結合ドメインはさらに、マカカ・ムラタまたはマカカ・ファシキュラリス等のマカクのBCMA（それぞれ、SEQ ID NO: 1020および1021）に結合できる。第1の結合ドメインがマウスBCMAに結合しないことも想定されている。

【0198】

ヒトBCMAに対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは 15nM、より好ましくは

10

20

30

40

50

10nM、さらにより好ましくは 5nM、最も好ましくは 1nMである。

【0199】

1つの態様において、本発明の結合分子の第1の結合ドメインは：

- (a) SEQ ID NO: 841に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 842に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 843に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 844に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 845に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 846に示されるCDR-L3；
 - (b) SEQ ID NO: 851に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 852に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 853に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 854に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 855に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 856に示されるCDR-L3；
 - (c) SEQ ID NO: 861に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 862に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 863に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 864に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 865に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 866に示されるCDR-L3；
 - (d) SEQ ID NO: 871に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 872に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 873に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 874に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 875に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 876に示されるCDR-L3；
 - (e) SEQ ID NO: 881に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 882に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 883に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 884に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 885に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 886に示されるCDR-L3；
 - (f) SEQ ID NO: 891に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 892に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 893に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 894に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 895に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 896に示されるCDR-L3；
 - (g) SEQ ID NO: 901に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 902に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 903に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 904に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 905に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 906に示されるCDR-L3；
 - (h) SEQ ID NO: 911に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 912に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 913に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 914に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 915に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 916に示されるCDR-L3；
 - (i) SEQ ID NO: 921に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 922に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 923に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 924に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 925に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 926に示されるCDR-L3；
 - (k) SEQ ID NO: 931に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 932に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 933に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 934に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 935に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 936に示されるCDR-L3；
 - (l) SEQ ID NO: 941に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 942に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 943に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 944に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 945に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 946に示されるCDR-L3；ならびに
 - (m) SEQ ID NO: 951に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 952に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 953に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 954に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 955に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 956に示されるCDR-L3
- からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む。

【0200】

さらに別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 847、SEQ ID NO: 857、SEQ ID NO: 867、SEQ ID NO: 877、SEQ ID NO: 887、SEQ ID NO: 897、SEQ ID NO: 907、SEQ ID NO: 917、SEQ ID NO: 927、SEQ ID NO: 937、SEQ ID NO: 947およびSEQ ID NO: 957に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む。

【0201】

別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 848、SEQ ID NO: 858、SEQ ID NO: 868、SEQ ID NO: 878、SEQ ID NO: 888、SEQ ID NO: 898、SEQ ID NO: 908、SEQ ID NO: 918、SEQ ID NO: 928、SEQ ID NO: 938、SEQ ID NO: 948およびSEQ ID NO: 50

: 958に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む。

【0202】

1つの態様において、結合分子の第1の結合ドメインは：

- (a) SEQ ID NO: 847に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 848に示されるVL領域；
- (b) SEQ ID NO: 857に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 858に示されるVL領域；
- (c) SEQ ID NO: 867に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 868に示されるVL領域；
- (d) SEQ ID NO: 877に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 878に示されるVL領域；
- (e) SEQ ID NO: 887に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 888に示されるVL領域；
- (f) SEQ ID NO: 897に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 898に示されるVL領域；
- (g) SEQ ID NO: 907に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 908に示されるVL領域；
- (h) SEQ ID NO: 917に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 918に示されるVL領域；
- (i) SEQ ID NO: 927に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 928に示されるVL領域；
- (k) SEQ ID NO: 937に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 938に示されるVL領域；
- (l) SEQ ID NO: 947に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 948に示されるVL領域；ならびに
- (m) SEQ ID NO: 957に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 958に示されるVL領域からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む。

【0203】

1つの例において、第1の結合ドメインは、SEQ ID NO: 849、SEQ ID NO: 859、SEQ ID NO: 869、SEQ ID NO: 879、SEQ ID NO: 889、SEQ ID NO: 899、SEQ ID NO: 909、SEQ ID NO: 919、SEQ ID NO: 929、SEQ ID NO: 939、SEQ ID NO: 949およびSEQ ID NO: 959からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0204】

第4の結合分子グループはまた、以下の項目にも関連する：

1. 第1および第2の結合ドメインを含む結合分子であって、
 - (a) 第1の結合ドメインが、
 - (i) SEQ ID NO: 1007に示されるアミノ酸配列に対応するヒトBCMAの細胞外ドメイン、ならびに
 - (ii) SEQ ID NO: 1009、SEQ ID NO: 1010、SEQ ID NO: 1011、SEQ ID NO: 1012、SEQ ID NO: 1013、SEQ ID NO: 1014およびSEQ ID NO: 1015に示されるアミノ酸配列に対応するBCMAドメインからなる群より選択されるBCMAのキメラ細胞外ドメインの少なくとも1つ、
2. 第1の結合ドメインがさらにマカクBCMAに結合できる、項目1の結合分子。
3. 第2の結合ドメインがCD3イプシロンに結合できる、項目1または2の結合分子。
4. 第2の結合ドメインがヒトCD3およびマカクCD3に結合できる、前記項目のいずれかの結合分子。
5. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 1008に示されるアミノ酸配列に対応するマウスBCMAの細胞外ドメインに結合できない、前記項目のいずれかの結合分子。
6. 第1および/または第2の結合ドメインが抗体由来である、前記項目のいずれかの結合分子。
7. (scFv)₂、(單一ドメインmAb)₂、scFv-單一ドメインmAb、ダイアボディおよびこれらのオリゴマーからなる群より選択される、項目6の結合分子。
8. 第1の結合ドメインが、
 - (a) SEQ ID NO: 841に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 842に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 843に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 844に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 845に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 846に示されるCDR-L3；
 - (b) SEQ ID NO: 851に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 852に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:

853に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 854に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 855に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 856に示されるCDR-L3；

(c) SEQ ID NO: 861に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 862に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 863に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 864に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 865に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 866に示されるCDR-L3；

(d) SEQ ID NO: 871に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 872に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 873に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 874に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 875に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 876に示されるCDR-L3；

(e) SEQ ID NO: 881に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 882に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 883に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 884に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 885に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 886に示されるCDR-L3；

(f) SEQ ID NO: 891に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 892に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 893に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 894に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 895に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 896に示されるCDR-L3；

(g) SEQ ID NO: 901に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 902に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 903に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 904に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 905に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 906に示されるCDR-L3；

(h) SEQ ID NO: 911に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 912に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 913に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 914に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 915に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 916に示されるCDR-L3；

(i) SEQ ID NO: 921に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 922に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 923に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 924に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 925に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 926に示されるCDR-L3；

(k) SEQ ID NO: 931に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 932に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 933に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 934に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 935に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 936に示されるCDR-L3；

(l) SEQ ID NO: 941に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 942に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 943に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 944に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 945に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 946に示されるCDR-L3；ならびに

(m) SEQ ID NO: 951に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 952に示されるCDR-H2、SEQ ID NO: 953に示されるCDR-H3、SEQ ID NO: 954に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 955に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO: 956に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

9. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 847、SEQ ID NO: 857、SEQ ID NO: 867、SEQ ID NO: 877、SEQ ID NO: 887、SEQ ID NO: 897、SEQ ID NO: 907、SEQ ID NO: 917、SEQ ID NO: 927、SEQ ID NO: 937、SEQ ID NO: 947およびSEQ ID NO: 957に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

10. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 848、SEQ ID NO: 858、SEQ ID NO: 868、SEQ ID NO: 878、SEQ ID NO: 888、SEQ ID NO: 898、SEQ ID NO: 908、SEQ ID NO: 918、SEQ ID NO: 928、SEQ ID NO: 938、SEQ ID NO: 948およびSEQ ID NO: 958に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

11. 第1の結合ドメインが、

(a) SEQ ID NO: 847に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 848に示されるVL領域；

(b) SEQ ID NO: 857に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 858に示されるVL領域；

(c) SEQ ID NO: 867に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 868に示されるVL領域；

(d) SEQ ID NO: 877に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 878に示されるVL領域；

(e) SEQ ID NO: 887に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 888に示されるVL領域；

(f) SEQ ID NO: 897に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 898に示されるVL領域；

(g) SEQ ID NO: 907に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 908に示されるVL領域；

10

20

30

40

50

(h) SEQ ID NO: 917に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 918に示されるVL領域；
 (i) SEQ ID NO: 927に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 928に示されるVL領域；
 (k) SEQ ID NO: 937に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 938に示されるVL領域；
 (l) SEQ ID NO: 947に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 948に示されるVL領域；ならびに

(m) SEQ ID NO: 957に示されるVH領域およびSEQ ID NO: 958に示されるVL領域
 からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

12. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO: 849、SEQ ID NO: 859、SEQ ID NO: 869、SEQ ID NO: 879、SEQ ID NO: 889、SEQ ID NO: 899、SEQ ID NO: 909、SEQ ID NO: 919、SEQ ID NO: 929、SEQ ID NO: 939、SEQ ID NO: 949およびSEQ ID NO: 959からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目11の結合分子。 10

13. 項目1～12のいずれかの結合分子をコードする、核酸配列。

14. 項目13の核酸配列を含む、ベクター。

15. 項目13の核酸配列または項目14のベクターで形質転換またはトランスフェクトされた、宿主細胞。

16. 項目1～12のいずれかの結合分子の発現を可能にする条件下で項目15の宿主細胞を培養する工程、および、產生された結合分子を培養物から回収する工程を含む、項目1～12のいずれかの結合分子の製造プロセス。

17. 項目1～12のいずれかの結合分子または項目16のプロセスによって製造された結合分子を含む、薬学的組成物。 20

18. 形質細胞障害、BCMA発現と相関する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の予防、処置または寛解において使用するための、項目1～12のいずれかの結合分子または項目16のプロセスによって製造された結合分子。

19. 形質細胞障害、BCMA発現と相関する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の処置または寛解のための方法であって、それを必要とする対象に項目1～12のいずれかの結合分子または項目16のプロセスによって製造された結合分子を投与する工程を含む、方法。

20. 形質細胞障害が、多発性骨髄腫、形質細胞腫、形質細胞性白血病、マクログロブリン血症、アミロイドーシス、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性骨形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローニンググロブリン血症、およびくすぶり型多発性骨髄腫からなる群より選択される、項目19の方法。 30

21. 自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデスである、項目19の方法。

22. 項目1～12のいずれかの結合分子、項目13の核酸分子、項目14のベクターまたは15の宿主細胞を含む、キット。

【 0 2 0 5 】

第5の結合分子グループ(E)

本発明の第5の結合分子グループは、本発明の第1の結合ドメインがヒトBCMA、好ましくはヒトBCMA ECDのエピトープクラスター3に結合できる、二重特異性である少なくとも第1および第2の結合ドメインを含む結合分子に関する。したがって、ヒトBCMAタンパク質中の各エピトープクラスターがマウスBCMA抗原の各エピトープクラスターと交換される（それによってヒトエピトープクラスター3がマウスエピトープクラスター3で置き換えられたヒトBCMAを含む構築物が生成される；SEQ ID NO:1011を参照のこと）場合、結合ドメインの結合の減少が起こり得る。この減少は、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターに対する結合を100%として、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターとの比較で、好ましくは少なくとも10%、20%、30%、40%、50%；より好ましくは少なくとも60%、70%、80%、90%、95%または100%でさえある。上記のヒトBCMA / マウスBCMAキメラをCHO細胞において発現させることが想定されている。ヒトBCMA / マウスBCMAキメラを異なる膜結合タンパク質、例えばEpCAM、の膜貫通ドメインおよび/または細胞質ドメインと融合させることも想定されている；図2aを参照のこと。

【 0 2 0 6 】

20

30

40

50

この、非ヒト（例えば、マウス）BCMA抗原の各エピトープクラスターとの交換に起因する結合の喪失を試験する方法は、付属の実施例、特に実施例E1～3に記載されている。所定の結合分子または結合ドメインによる認識に対する標的抗原の特定の残基の寄与を決定するためのさらなる方法は、分析したい各残基を例えば部位特異的変異誘発を通じてアラニンで置き換えるアラニンスキャニング（例えば、Morrison KL & Weiss GA. Cur Opin Chem Biol. 2001 Jun; 5(3): 302-7を参照のこと）である。アラニンが使用される理由は、かさ高くなく、化学的に不活性であり、にもかかわらず多くの他のアミノ酸が有している参考2次構造を模倣するメチル官能基を有しているため、である。ときどき、変異させる残基のサイズを保存することが望まれる例では、かさ高いアミノ酸、例えばバリンまたはロイシンが使用され得る。アラニンスキャニングは、長きにわたり使用されている成熟した技術である。

【0207】

1つの局面において、本発明の第1の結合ドメインは、ヒトBCMAのエピトープクラスター3に結合し、さらにマカクBCMA、例えばマカカ・ムラタ（SEQ ID NO:1017）またはマカカ・ファシキュラリス（SEQ ID NO:1017）由来のBCMA、のエピトープクラスター3に結合できる。第1の結合ドメインがマウスBCMAに結合することも結合しないことも想定されている。

【0208】

したがって、1つの態様において、ヒトBCMA、特にSEQ ID NO: 1002に示されるヒト配列のアミノ酸残基24～41によって形成されるBCMAの細胞外タンパク質ドメインのエピトープクラスター3に結合する結合ドメインはまた、マカクBCMA、特にSEQ ID NO: 1006に示されるマカクBCMA配列のアミノ酸残基24～41によって形成されるBCMAの細胞外タンパク質ドメインのエピトープクラスター3にも結合する。

【0209】

1つの態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、BCMAのエピトープクラスター3に結合でき、BCMAのエピトープクラスター3は、SEQ ID NO: 1002（ヒトBCMA全長ポリペプチド）またはSEQ ID NO: 1007（ヒトBCMA細胞外ドメイン：SEQ ID NO: 1002のアミノ酸1～54）に示される配列のアミノ酸残基24～41に対応する。

【0210】

本発明の1つの局面において、結合分子の第1の結合ドメインは、付加的にまたは代替的に、コモンマーモセット、ワタボウシタマリンおよび／またはコモンリスザルのBCMAのエピトープクラスター3に結合できる。

【0211】

T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインが：
(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO:27に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:28に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:29に示されるCDR-L3；
(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO:117に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:118に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:119に示されるCDR-L3；ならびに
(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO:153に示されるCDR-L1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:154に示されるCDR-L2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:155に示されるCDR-L3から選択されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含むことが、本発明の結合分子にとって特に好ましい。

【0212】

本発明の結合分子の代替の好ましい態様において、T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインは：

(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO:12に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:13に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:14に示されるCDR-H3；
(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO:30に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:31に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:32に示されるCDR-H3；
(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO:48に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:49

10

20

30

40

50

に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:50に示されるCDR-H3；
 (d) WO 2008/119567のSEQ ID NO:66に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:67
 に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:68に示されるCDR-H3；
 (e) WO 2008/119567のSEQ ID NO:84に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:85
 に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:86に示されるCDR-H3；
 (f) WO 2008/119567のSEQ ID NO:102に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:10
 3に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:104に示されるCDR-H3；
 (g) WO 2008/119567のSEQ ID NO:120に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:12
 1に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:122に示されるCDR-H3；
 (h) WO 2008/119567のSEQ ID NO:138に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:13
 9に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:140に示されるCDR-H3；
 (i) WO 2008/119567のSEQ ID NO:156に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:15
 7に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:158に示されるCDR-H3；ならびに
 (j) WO 2008/119567のSEQ ID NO:174に示されるCDR-H1、WO 2008/119567のSEQ ID NO:17
 5に示されるCDR-H2およびWO 2008/119567のSEQ ID NO:176に示されるCDR-H3
 から選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域を含む。
 10

【0213】

T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインがWO 2008/119567のSEQ ID NO:3
 5、39、125、129、161または165に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含
 むことが、本発明の結合分子にとってさらに好ましい。
 20

【0214】

あるいは、T細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインがWO 2008/119567のS
 EQ ID NO:15、19、33、37、51、55、69、73、87、91、105、109、123、127、141、145、1
 59、163、177または181に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含むことが
 、好ましい。

【0215】

より好ましくは、本発明の結合分子は：

(a) WO 2008/119567のSEQ ID NO:17または21に示されるVL領域およびWO 2008/119567のS
 EQ ID NO:15または19に示されるVH領域；

(b) WO 2008/119567のSEQ ID NO:35または39に示されるVL領域およびWO 2008/119567的S
 EQ ID NO:33または37に示されるVH領域；
 30

(c) WO 2008/119567のSEQ ID NO:53または57に示されるVL領域およびWO 2008/119567的S
 EQ ID NO:51または55に示されるVH領域；

(d) WO 2008/119567のSEQ ID NO:71または75に示されるVL領域およびWO 2008/119567的S
 EQ ID NO:69または73に示されるVH領域；

(e) WO 2008/119567のSEQ ID NO:89または93に示されるVL領域およびWO 2008/119567的S
 EQ ID NO:87または91に示されるVH領域；

(f) WO 2008/119567のSEQ ID NO:107または111に示されるVL領域およびWO 2008/119567
 のSEQ ID NO:105または109に示されるVH領域；

(g) WO 2008/119567のSEQ ID NO:125または129に示されるVL領域およびWO 2008/119567
 のSEQ ID NO:123または127に示されるVH領域；
 40

(h) WO 2008/119567のSEQ ID NO:143または147に示されるVL領域およびWO 2008/119567
 的SEQ ID NO:141または145に示されるVH領域；

(i) WO 2008/119567のSEQ ID NO:161または165に示されるVL領域およびWO 2008/119567
 的SEQ ID NO:159または163に示されるVH領域；ならびに

(j) WO 2008/119567のSEQ ID NO:179または183に示されるVL領域およびWO 2008/119567
 的SEQ ID NO:177または181に示されるVH領域

からなる群より選択されるVL領域およびVH領域を含むT細胞CD3受容体複合体に結合できる
 第2の結合ドメインによって特徴づけられる。

【0216】

本発明の結合分子、特にT細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインの好ましい態様にしたがい、VH領域およびVL領域の対は、単鎖抗体(scFv)の形態である。VHおよびVL領域は、VH-VLまたはVL-VHの順で配列される。VH領域がリンカー配列のN末端側に配置されることが好ましい。VL領域はリンカー配列のC末端側に配置される。

【0217】

上記の本発明の結合分子の好ましい態様は、WO 2008/119567のSEQ ID NO:23、25、41、43、59、61、77、79、95、97、113、115、131、133、149、151、167、169、185または187からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むT細胞CD3受容体複合体に結合できる第2の結合ドメインによって特徴づけられる。

【0218】

1つの態様において、本発明の結合分子の第1の結合ドメインは：

(1) SEQ ID NO:1に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:2に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:3に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:4に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:5に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:6に示されるCDR-L3；

(2) SEQ ID NO:11に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:12に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:13に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:14に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:15に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:16に示されるCDR-L3；

(3) SEQ ID NO:21に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:22に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:23に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:24に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:25に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:26に示されるCDR-L3；

(4) SEQ ID NO:31に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:32に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:33に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:34に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:35に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:36に示されるCDR-L3；

(5) SEQ ID NO:41に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:42に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:43に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:44に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:45に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:46に示されるCDR-L3；

(6) SEQ ID NO:51に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:52に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:53に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:54に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:55に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:56に示されるCDR-L3；

(7) SEQ ID NO:61に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:62に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:63に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:64に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:65に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:66に示されるCDR-L3；

(8) SEQ ID NO:71に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:72に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:73に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:74に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:75に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:76に示されるCDR-L3；

(9) SEQ ID NO:161に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:162に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:163に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:164に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:165に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:166に示されるCDR-L3；

(10) SEQ ID NO:171に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:172に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:173に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:174に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:175に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:176に示されるCDR-L3；

(11) SEQ ID NO:181に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:182に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:183に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:184に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:185に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:186に示されるCDR-L3；

(12) SEQ ID NO:191に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:192に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:193に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:194に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:195に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:196に示されるCDR-L3；

(13) SEQ ID NO:201に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:202に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:203に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:204に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:205に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:206に示されるCDR-L3；

10

20

30

40

50

3に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:814に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:815に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:816に示されるCDR-L3；

(48) SEQ ID NO:821に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:822に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:823に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:824に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:825に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:826に示されるCDR-L3；

(49) SEQ ID NO:831に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:832に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:833に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:834に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:835に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:836に示されるCDR-L3；

(50) SEQ ID NO:961に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:962に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:963に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:964に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:965に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:966に示されるCDR-L3；

(51) SEQ ID NO:971に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:972に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:973に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:974に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:975に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:976に示されるCDR-L3；

(52) SEQ ID NO:981に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:982に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:983に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:984に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:985に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:986に示されるCDR-L3；ならびに

(53) SEQ ID NO:991に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:992に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:993に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:994に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:995に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:996に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む。

【0219】

さらに別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:167、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:197、SEQ ID NO:207、SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:317、SEQ ID NO:327、SEQ ID NO:337、SEQ ID NO:347、SEQ ID NO:357、SEQ ID NO:367、SEQ ID NO:377、SEQ ID NO:387、SEQ ID NO:587、SEQ ID NO:597、SEQ ID NO:607、SEQ ID NO:617、SEQ ID NO:627、SEQ ID NO:637、SEQ ID NO:647、SEQ ID NO:657、SEQ ID NO:667、SEQ ID NO:677、SEQ ID NO:687、SEQ ID NO:697、SEQ ID NO:707、SEQ ID NO:717、SEQ ID NO:727、SEQ ID NO:737、SEQ ID NO:747、SEQ ID NO:757、SEQ ID NO:767、SEQ ID NO:777、SEQ ID NO:787、SEQ ID NO:797、SEQ ID NO:807、SEQ ID NO:817、SEQ ID NO:827、SEQ ID NO:837、SEQ ID NO:967、SEQ ID NO:977、SEQ ID NO:987およびSEQ ID NO:997に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む。

【0220】

別の態様において、結合分子の第1の結合ドメインは、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:218、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:318、SEQ ID NO:328、SEQ ID NO:338、SEQ ID NO:348、SEQ ID NO:358、SEQ ID NO:368、SEQ ID NO:378、SEQ ID NO:388、SEQ ID NO:588、SEQ ID NO:598、SEQ ID NO:608、SEQ ID NO:618、SEQ ID NO:628、SEQ ID NO:638、SEQ ID NO:648、SEQ ID NO:658、SEQ ID NO:668、SEQ ID NO:678、SEQ ID NO:688、SEQ ID NO:698、SEQ ID NO:708、SEQ ID NO:718、SEQ ID NO:728、SEQ ID NO:738、SEQ ID NO:748、SEQ ID NO:758、SEQ ID NO:768、SEQ ID NO:778、SEQ ID NO:788、SEQ ID NO:798、SEQ ID NO:808、SEQ ID NO:818、SEQ ID NO:828、SEQ ID NO:838、SEQ ID NO:968、SEQ ID NO:978、SEQ ID NO:988およびSEQ ID NO:998に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む。

【0221】

1つの態様において、結合分子の第1の結合ドメインは：

10

20

30

40

50

(51) SEQ ID NO:977に示されるVH領域およびSEQ ID NO:978に示されるVL領域；
 (52) SEQ ID NO:987に示されるVH領域およびSEQ ID NO:988に示されるVL領域；ならびに
 (53) SEQ ID NO:997に示されるVH領域およびSEQ ID NO:998に示されるVL領域
 からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む。

【0222】

1つの例において、第1の結合ドメインは、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:29
 、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:79、SEQ ID N
 O:169、SEQ ID NO:179、SEQ ID NO:189、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:209、SEQ ID NO:219
 、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:319、SEQ ID NO:329、SEQ ID NO:339、SEQ ID NO:349、SEQ
 ID NO:359、SEQ ID NO:369、SEQ ID NO:379、SEQ ID NO:389、SEQ ID NO:589、SEQ ID N 10
 O:599、SEQ ID NO:609、SEQ ID NO:619、SEQ ID NO:629、SEQ ID NO:639、SEQ ID NO:649
 、SEQ ID NO:659、SEQ ID NO:669、SEQ ID NO:679、SEQ ID NO:689、SEQ ID NO:699、SEQ
 ID NO:709、SEQ ID NO:719、SEQ ID NO:729、SEQ ID NO:739、SEQ ID NO:749、SEQ ID N
 O:759、SEQ ID NO:769、SEQ ID NO:779、SEQ ID NO:789、SEQ ID NO:799、SEQ ID NO:809
 、SEQ ID NO:819、SEQ ID NO:829、SEQ ID NO:839、SEQ ID NO:969、SEQ ID NO:979、SEQ
 ID NO:989およびSEQ ID NO:999からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0223】

本発明の結合分子が、3、4および12位にチロシン(Y)残基が存在する12アミノ酸長のC
 DR-H3領域を有することが、好ましい。好ましいCDR-H3は、SEQ ID NO:43、193、333、613
 、703、733、823または973に示されている。したがって、本発明の結合分子は、好ましい 20
 様様において、SEQ ID NO:43、193、333、613、703、733、823または973に示されるCDR-H
 3を有する。

【0224】

SEQ ID NO:340に示されるアミノ酸配列を有する結合分子が好ましい。SEQ ID NO:980に
 示されるアミノ酸配列を有する結合分子も好ましい。

【0225】

ヒトBCMAに対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは 15 nM、より好ましくは
 10 nM、さらにより好ましくは 5 nM、さらにより好ましくは 1 nM、さらにより好ま
 しくは 0.5 nM、さらにより好ましくは 0.1 nM、そして最も好ましくは 0.05 nMであ
 る。マカクBCMAに対する第1の結合ドメインの親和性は、好ましくは 15 nM、より好ま
 しくは 10 nM、さらにより好ましくは 5 nM、さらにより好ましくは 1 nM、さらにより
 好ましくは 0.5 nM、さらにより好ましくは 0.1 nM、そして最も好ましくは 0.05 nM
 であり、 0.01 nMでさえある。親和性は、例えば、例えば実施例に記載されるようなBia
 coreアッセイまたはScatchardアッセイにおいて測定され得る。マカクBCMAへの結合 対
 ヒトBCMAへの結合の親和性ギャップは、好ましくは [1 : 10 ~ 1 : 5] または [5 : 1 ~ 10 : 1]
 、より好ましくは [1 : 5 ~ 5 : 1] 、そして最も好ましくは [1 : 2 ~ 3 : 1] であり、 [1
 : 1 ~ 3 : 1] でさえある。親和性を決定する他の方法は、当業者に周知である。

【0226】

BCMA/CD3二重特異性結合分子によって媒介される細胞毒性は、様々な方法で測定するこ
 とができる。エフェクター細胞は、例えば、刺激された濃縮(ヒト)CD8陽性T細胞または
 未刺激の(ヒト)末梢血単核細胞(PBMC)であり得る。標的細胞がマカク起源であるまたはマカクBCMAを発現するもしくはマカクBCMAでトランスフェクトされている場合、エフェ
 クター細胞もまた、マカク起源、例えばマカクT細胞株、例えば4119LnPxであるべきである。
 標的細胞は、BCMA、例えばヒトまたはマカクBCMA(の少なくとも細胞外ドメイン)を
 発現するものであるべきである。標的細胞は、BCMA、例えばヒトまたはマカクBCMAで安定
 的または一過的にトランスフェクトされた細胞株(例えば、CHO)であり得る。あるいは、
 標的細胞は、BCMA陽性天然発現細胞株、例えばヒト多発性骨髄腫細胞株L363またはNCI-
 H929であり得る。通常、EC50値は、その細胞表面上により高いレベルのBCMAを発現する標
 的細胞株に対してより低くなると考えられる。エフェクター 対 標的細胞(E:T)比は、
 通常、約10:1であるが、これは変更することもできる。BCMA/CD3二重特異性結合分子の細 40
 50

胞毒性活性は、51クロム放出アッセイ（インキュベート時間約18時間）においてまたはFA CSベースの細胞毒性アッセイ（インキュベート時間約48時間）において測定することができる。アッセイのインキュベート時間（細胞毒性反応）は変更することも可能である。細胞毒性を測定する他の方法は、当業者に周知であり、生物発光アッセイ、スルホローダミンB (SRB) アッセイ、WSTアッセイ、クローン形成アッセイおよびECIS技術を含む、MTTまたはMTSアッセイ、ATPベースのアッセイを含む。

【0227】

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子によって媒介される細胞毒性活性は、好ましくは、細胞ベースの細胞毒性アッセイにおいて測定される。それは、半数効果濃度（ベースラインと最大の中間の細胞毒性反応を誘導する結合分子の濃度）に対応するEC₅₀値によって表される。好ましくは、BCMA/CD3二重特異性結合分子のEC₅₀値は、20.000 pg/ml、より好ましくは5000 pg/ml、さらにより好ましくは1000 pg/ml、さらにより好ましくは500 pg/ml、さらにより好ましくは350 pg/ml、さらにより好ましくは320 pg/ml、さらにより好ましくは250 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/ml、さらにより好ましくは50 pg/ml、さらにより好ましくは10 pg/ml、そして最も好ましくは5 pg/mlである。

【0228】

上記の与えられた任意のEC₅₀値が、細胞ベースの細胞毒性アッセイの示されたシナリオのいずれか1つと組み合わされ得る。例えば、(ヒト)CD8陽性T細胞またはマカクT細胞株がエフェクター細胞として使用される場合、BCMA/CD3二重特異性結合分子のEC₅₀値は、好ましくは1000 pg/ml、より好ましくは500 pg/ml、さらにより好ましくは250 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/ml、さらにより好ましくは50 pg/ml、さらにより好ましくは10 pg/mlおよび最も好ましくは5 pg/mlである。このアッセイにおいて標的細胞が(ヒトまたはマカク)BCMAトランスフェクト細胞、例えばCHO細胞である場合、BCMA/CD3二重特異性結合分子のEC₅₀値は、好ましくは150 pg/ml、より好ましくは100 pg/ml、さらにより好ましくは50 pg/ml、さらにより好ましくは30 pg/ml、さらにより好ましくは10 pg/mlおよび最も好ましくは5 pg/mlである。

標的細胞がBCMA陽性天然発現細胞株である場合、EC₅₀値は、好ましくは350 pg/ml、より好ましくは320 pg/ml、さらにより好ましくは250 pg/ml、さらにより好ましくは200 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/ml、さらにより好ましくは150 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/mlおよび最も好ましくは50 pg/mlまたはそれより低い値である。

(ヒト)PBMCがエフェクター細胞として使用される場合、BCMA/CD3二重特異性結合分子のEC₅₀値は、好ましくは1000 pg/ml、より好ましくは750 pg/ml、より好ましくは500 pg/ml、さらにより好ましくは350 pg/ml、さらにより好ましくは320 pg/ml、さらにより好ましくは250 pg/ml、さらにより好ましくは100 pg/mlおよび最も好ましくは50 pg/mlまたはそれより低い値である。

特に好ましい態様において、本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子は、350 pg/mlまたはそれ未満、より好ましくは320 pg/mlまたはそれ未満のEC50によって特徴づけられる。その態様において、標的細胞はL363細胞であり、エフェクター細胞は未刺激のヒトPBMCである。当業者は、さらなる労力を要さずEC50値を測定する方法を知っている。さらに、本明細書は、EC50値を測定する方法の具体的な手引きを教示している；例えば、以下の実施例E8.3を参照のこと。適当なプロトコルは、以下のようなものである：

- a) 濃縮リンパ球調製物（軟膜）からFicoll密度勾配遠心分離によってヒト末梢血単核細胞（PBMC）を調製する
- b) 任意で、Dulbecco's PBS (Gibco) により洗浄する
- c) 赤血球溶解緩衝液（155 mM NH₄Cl、10 mM KHCO₃、100 μM EDTA）とのインキュベートを通じてPBMCから残存する赤血球を除去する
- c) 100 × gでのPBMCの遠心分離により上清を通じて血小板を除去する
- d) CD14⁺細胞およびNK細胞を枯渇させる

10

20

30

40

50

e) 例えばLSカラム (Miltenyi Biotec、# 130-042-401) を用いてCD14/CD56陰性細胞を単離する

f) 必要になるまで、37 のインキュベーターにおいて、例えばRPMI完全培地、すなわち10% FBS (Biochrom AG, # S0115)、1 x 非必須アミノ酸 (Biochrom AG, # K0293)、10 mM Hepes緩衝液 (Biochrom AG, # L1613)、1 mMピルビン酸ナトリウム (Biochrom AG, # L0473) および100 U/mLペニシリン／ストレプトマイシン (Biochrom AG, # A2213) を補充したRPMI 1640 (Biochrom AG, # FG1215) 中で、PBMC w/o CD14+/CD56+細胞を培養する

g) 標的細胞を標識する

h) E:T細胞比が10 : 1となるよう、好ましくは等容積で、エフェクターおよび標的細胞を混合する

10

i) 好ましくは連続希釈物として、結合分子を添加する

j) 7% CO₂加湿インキュベーター中で48時間進行させる

k) 例えばヨウ化プロピジウム (PI) を1 μg/mLの終濃度で添加することによって、標的細胞の膜完全性を、例えばフローサイトメトリーによって、モニタリングする

l) 例えば次式：

$$\text{細胞毒性 [%]} = \frac{n_{\text{死滅した標的細胞}}}{n_{\text{標的細胞}}} \times 100$$

n = 事象数

20

にしたがい、EC50を計算する。

【0229】

GraphPad Prism 5ソフトウェア (Graph Pad Software, San Diego) を用いて、細胞毒性の百分率を、対応する二重特異性抗体濃度に対してプロットした。用量応答曲線は、一定のヒルスロープ (hill slope) のシグモイド型用量応答曲線の評価のための4パラメータロジスティック回帰モデルを用いて分析することができ、そしてEC50値を計算した。

【0230】

上記の観点から、本発明の結合分子が350またはそれ未満、好ましくは320またはそれ未満のEC50 (pg/ml) によって特徴づけられることが好ましい。

【0231】

30

本発明はまた、BCMA/CD3二重特異性結合分子BCMA-83 x CD3、BCMA-62 x CD3、BCMA-5 x CD3、BCMA-98 x CD3、BCMA-71 x CD3、BCMA-34 x CD3、BCMA-74 x CD3、BCMA-20 x CD3のいずれか1つのEC50 (pg/ml) と同等のEC50 (pg/ml) によって特徴づけられる本明細書に記載される結合分子に関する。本明細書に記載される結合分子のEC50がBCMA-83 x CD3、BCMA-62 x CD3、BCMA-5 x CD3、BCMA-98 x CD3、BCMA-71 x CD3、BCMA-34 x CD3、BCMA-74 x CD3、BCMA-20 x CD3のいずれか1つのEC50と同等であるかどうかを決定するために、EC50値の決定に関して同一のアッセイが適用されることが想定される。「同等」という用語は、各EC50値の+/- 10%、好ましくは+/- 7.5%、より好ましくは+/- 5%、さらにより好ましくは+/- 2.5%の偏差を含む。

上記のアッセイにおいて「参照」結合分子の役割を果たすBCMA/CD3二重特異性結合分子BCMA-83 x CD3、BCMA-62 x CD3、BCMA-5 x CD3、BCMA-98 x CD3、BCMA-71 x CD3、BCMA-34 x CD3、BCMA-74 x CD3、BCMA-20 x CD3は、好ましくはCHO細胞において生産される。

40

【0232】

個々のBCMA/CD3二重特異性結合分子（例えば、抗体）の単量体アイソフォームと二量体アイソフォームの間の細胞毒性活性の違いは、「効果ギャップ (potency gap)」と称される。この効果ギャップは、例えば、その分子の単量体形態のEC₅₀値と二量体形態のEC₅₀値の間の比として計算され得る。本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子の効果ギャップは、好ましくは 5、より好ましくは 4、さらにより好ましくは 3、さらにより好ましくは 2および最も好ましくは 1である。

【0233】

50

好ましくは、本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子は、ヒトBAFF-Rおよび／またはヒトTACIに結合、それらと相互作用、それらを認識またはそれらと交差反応しない。ヒトBAFF-Rおよび／またはヒトTACIとの交差反応を検出する方法は、実施例E9に開示されている。

【0234】

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子が複数回の凍結／解凍サイクルの後に非常に低い二量体変換率で存在することも好ましい。好ましくは、二量体変換率は、例えば3回の凍結／解凍サイクルの後に、5%、より好ましくは4%、さらにより好ましくは3%、さらにより好ましくは2.5%、さらにより好ましくは2%、さらにより好ましくは1.5%、そして最も好ましくは1%である。凍結解凍サイクルおよび二量体率の決定は、実施例E16にしたがい実施され得る。

10

【0235】

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子（例えば、抗体）は、好ましくは、60を超える融点という好ましい熱安定性を示す。

【0236】

BCMA/CD3二重特異性結合分子（例えば、抗体）とヒト血漿タンパク質との潜在的な相互作用を決定するために、血漿干渉試験が実施され得る（例えば、実施例E18を参照のこと）。好ましい態様において、血漿タンパク質により媒介されるBCMA/CD3二重特異性結合分子の標的結合の有意な減少はない。相対血漿干渉値は、好ましくは2である。

【0237】

本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子が治療効果または抗腫瘍活性を示すことができることがさらに想定される。これは、例えば、実施例E19に開示される研究（進行段階ヒト腫瘍異種移植モデル）において評価され得る。当業者は、この研究の特定のパラメータ、例えば注射される腫瘍細胞の数、注射部位、移植されるヒト細胞の数、投与されるBCMA/CD3二重特異性結合分子の量およびタイムラインを変更または適応させつつ、なおも有意義かつ再現可能な結果に到達する方法を知っている。好ましくは、腫瘍成長阻害率T/C[%]は、70もしくは60もしくはそれ未満、より好ましくは50もしくは40もしくはそれ未満、さらにより好ましくは少なくとも30もしくは20もしくはそれ未満、そして最も好ましくは10もしくはそれ未満、5もしくはそれ未満であり、または2.5もしくはそれ未満でさえある。

20

【0238】

好ましくは、本発明のBCMA/CD3二重特異性結合分子は、BCMA陰性細胞、例えばHL60、MESIS-SAおよびSNU-16の溶解を誘導／媒介しないまたは本質的に溶解を誘導／媒介しない。「溶解を誘導しない」、「本質的に溶解を誘導しない」、「溶解を媒介しない」または「本質的に溶解を媒介しない」という用語は、BCMA陽性細胞株、例えばNCI-H929、L-363またはOPM-2の溶解を100%として、本発明の結合分子がBCMA陰性細胞の30%を超える溶解を誘導または媒介せず、好ましくは20%を超える、より好ましくは10%を超える、特に好ましくは9%、8%、7%、6%または5%を超えないことを意味する。これは、少なくとも500nMまでの結合分子の濃度に適用される。当業者は、さらなる労力なしに細胞溶解を測定する方法を知っている。さらに、本明細書は、細胞溶解を測定する方法の具体的な手引きを教示している；例えば、以下の実施例E20を参照のこと。

30

【0239】

さらに、本発明は、BCMA、好ましくはヒトBCMAに結合できる結合分子、好ましくは抗体の作製のための、BCMA、好ましくはヒトBCMAのエピトープクラスター3の使用に関する。BCMAのエピトープクラスター3は、好ましくはSEQ ID NO:1002に示される配列のアミノ酸残基24～41に対応する。

40

【0240】

加えて、本発明は、BCMA、好ましくはヒトBCMAに結合できる抗体、好ましくは二重特異性結合分子を作製する方法であって、

(a) BCMA、好ましくはヒトBCMAのエピトープクラスター3を含むポリペプチドで動物を免疫する工程であって、BCMAのエピトープクラスター3がSEQ ID NO:1002に示される配列の

50

アミノ酸残基24～41に対応する工程、

(b) 抗体を得る工程、および

(c) 任意で、この抗体を、ヒトBCMAおよび好ましくはT細胞CD3受容体複合体に結合できる二重特異性結合分子に変換する工程、

を含む方法を提供する。

好ましくは、工程(b)は、得られた抗体を以下のようにして試験することを含む：ヒトBCMAタンパク質中の各エピトープクラスターがマウスBCMA抗原の各エピトープクラスターと交換される（それによって、ヒトエピトープクラスター-3がマウスエピトープクラスター-3で置き換えられたヒトBCMAを含む構築物が形成される；SEQ ID NO: 1011を参照のこと）場合、抗体の結合の減少が起こり得る。その減少は、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターに対する結合を100%として、ヒトBCMAタンパク質の各エピトープクラスターとの比較で、好ましくは、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%；より好ましくは、少なくとも60%、70%、80%、90%、95%であり、または100%でさえある。上記のヒトBCMA／マウスBCMAキメラをCHO細胞において発現させることが想定されている。ヒトBCMA／マウスBCMAキメラを、異なる膜結合タンパク質、例えばEpCAM、の膜貫通ドメインおよび／または細胞質ドメインと融合させることも想定されている；図2aを参照のこと。
10

この、非ヒト（例えば、マウス）BCMA抗原の各エピトープクラスターとの交換に起因する結合の喪失を試験する方法は、付属の実施例、特に実施例1～3に記載されている。

この方法はさらに、抗体がヒトBCMAのエピトープクラスター-3に結合し、さらにマカクBCMA、例えばマカカ・ムラタ（SEQ ID NO:1017）またはマカカ・ファシキュラリス（SEQ ID NO:1017）由来のBCMAのエピトープクラスター-3に結合できるかどうかに関する試験を含み得る。
20

【0241】

本発明はまた、SEQ ID NO:1～1000および1022～1093に示されるアミノ酸配列のいずれか1つを含む結合分子を提供する。

好ましくは、結合分子は、Xが1～100である「BCMA-(X)」で表される結合分子（付記された配列一覧表の第2列を参照のこと）由来の3つのVH CDR配列（「VH CDR1」、「VH CDR2」、「VH CDR3」と名付けられている、付記された配列一覧表の第4列を参照のこと）および／またはXが1～100であるBCMA-Xで表される結合分子（付記された配列一覧表の第2列を参照のこと）由来の3つのVL CDR配列（「VL CDR1」、「VH CDR2」、「VH CDR3」と名付けられている、付記された配列一覧表の第4列を参照のこと）を含む。
30

好ましくは、結合分子は、付記された配列一覧表に示されるVHおよび／またはVL配列（付記された配列一覧表の第4列を参照のこと；「VH」および「VL」）を含む。

好ましくは、結合分子は、付記された配列一覧表に示されるscFv配列（付記された配列一覧表の第4列を参照のこと；「scFv」）を含む。

好ましくは、結合分子は、付記された配列一覧表に示される二重特異性分子配列（付記された配列一覧表の第4列を参照のこと；「二重特異性分子」）を含む。

【0242】

第5の結合分子グループはまた、以下の項目にも関連する：

1. 第1および第2の結合ドメインを含む、少なくとも二重特異性である結合分子であって
40

、

(a) 第1の結合ドメインがBCMAのエピトープクラスター-3
(CQLRCSSNTPPLTCQRYC)

に結合でき、かつ、

(b) 第2の結合ドメインがT細胞CD3受容体複合体に結合でき、

ここで、BCMAのエピトープクラスター-3はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基24～41に対応する、結合分子。

2. 第1の結合ドメインが、マカクBCMAのエピトープクラスター-3
(CQLRCSSTPPLTCQRYC)

にさらに結合できる、項目1の結合分子。
50

3. 第2の結合ドメインがCD3イプシロンに結合できる、項目1または2の結合分子。
4. 第2の結合ドメインがヒトCD3およびマカクCD3に結合できる、前記項目のいずれかの結合分子。
5. 第1および / または第2の結合ドメインが抗体由来である、前記項目のいずれかの結合分子。
6. $(scFv)_2$ 、(單一ドメインmAb)₂、scFv-單一ドメインmAb、ダイアボディおよびこれらのオリゴマーからなる群より選択される、項目5の結合分子。
7. 第1の結合ドメインが、
- (1) SEQ ID NO:1に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:2に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:3に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:4に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:5に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:6に示されるCDR-L3；
- (2) SEQ ID NO:11に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:12に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:13に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:14に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:15に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:16に示されるCDR-L3；
- (3) SEQ ID NO:21に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:22に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:23に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:24に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:25に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:26に示されるCDR-L3；
- (4) SEQ ID NO:31に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:32に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:33に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:34に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:35に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:36に示されるCDR-L3；
- (5) SEQ ID NO:41に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:42に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:43に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:44に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:45に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:46に示されるCDR-L3；
- (6) SEQ ID NO:51に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:52に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:53に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:54に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:55に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:56に示されるCDR-L3；
- (7) SEQ ID NO:61に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:62に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:63に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:64に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:65に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:66に示されるCDR-L3；
- (8) SEQ ID NO:71に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:72に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:73に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:74に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:75に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:76に示されるCDR-L3；
- (9) SEQ ID NO:161に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:162に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:163に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:164に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:165に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:166に示されるCDR-L3；
- (10) SEQ ID NO:171に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:172に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:173に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:174に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:175に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:176に示されるCDR-L3；
- (11) SEQ ID NO:181に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:182に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:183に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:184に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:185に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:186に示されるCDR-L3；
- (12) SEQ ID NO:191に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:192に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:193に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:194に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:195に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:196に示されるCDR-L3；
- (13) SEQ ID NO:201に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:202に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:203に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:204に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:205に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:206に示されるCDR-L3；
- (14) SEQ ID NO:211に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:212に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:213に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:214に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:215に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:216に示されるCDR-L3；

3に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:824に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:825に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:826に示されるCDR-L3；

(49) SEQ ID NO:831に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:832に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:833に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:834に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:835に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:836に示されるCDR-L3；

(50) SEQ ID NO:961に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:962に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:963に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:964に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:965に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:966に示されるCDR-L3；

(51) SEQ ID NO:971に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:972に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:973に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:974に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:975に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:976に示されるCDR-L3；

(52) SEQ ID NO:981に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:982に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:983に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:984に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:985に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:986に示されるCDR-L3；ならびに

(53) SEQ ID NO:991に示されるCDR-H1、SEQ ID NO:992に示されるCDR-H2、SEQ ID NO:993に示されるCDR-H3、SEQ ID NO:994に示されるCDR-L1、SEQ ID NO:995に示されるCDR-L2およびSEQ ID NO:996に示されるCDR-L3

からなる群より選択されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVH領域ならびにCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含むVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

8. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:167、SEQ ID NO:177、SEQ ID NO:187、SEQ ID NO:197、SEQ ID NO:207、SEQ ID NO:217、SEQ ID NO:227、SEQ ID NO:317、SEQ ID NO:327、SEQ ID NO:337、SEQ ID NO:347、SEQ ID NO:357、SEQ ID NO:367、SEQ ID NO:377、SEQ ID NO:387、SEQ ID NO:587、SEQ ID NO:597、SEQ ID NO:607、SEQ ID NO:617、SEQ ID NO:627、SEQ ID NO:637、SEQ ID NO:647、SEQ ID NO:657、SEQ ID NO:667、SEQ ID NO:677、SEQ ID NO:687、SEQ ID NO:697、SEQ ID NO:707、SEQ ID NO:717、SEQ ID NO:727、SEQ ID NO:737、SEQ ID NO:747、SEQ ID NO:757、SEQ ID NO:767、SEQ ID NO:777、SEQ ID NO:787、SEQ ID NO:797、SEQ ID NO:807、SEQ ID NO:817、SEQ ID NO:827、SEQ ID NO:837、SEQ ID NO:967、SEQ ID NO:977、SEQ ID NO:987およびSEQ ID NO:997に示されるVH領域からなる群より選択されるVH領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

9. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:168、SEQ ID NO:178、SEQ ID NO:188、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:208、SEQ ID NO:218、SEQ ID NO:228、SEQ ID NO:318、SEQ ID NO:328、SEQ ID NO:338、SEQ ID NO:348、SEQ ID NO:358、SEQ ID NO:368、SEQ ID NO:378、SEQ ID NO:388、SEQ ID NO:588、SEQ ID NO:598、SEQ ID NO:608、SEQ ID NO:618、SEQ ID NO:628、SEQ ID NO:638、SEQ ID NO:648、SEQ ID NO:658、SEQ ID NO:668、SEQ ID NO:678、SEQ ID NO:688、SEQ ID NO:698、SEQ ID NO:708、SEQ ID NO:718、SEQ ID NO:728、SEQ ID NO:738、SEQ ID NO:748、SEQ ID NO:758、SEQ ID NO:768、SEQ ID NO:778、SEQ ID NO:788、SEQ ID NO:798、SEQ ID NO:808、SEQ ID NO:818、SEQ ID NO:828、SEQ ID NO:838、SEQ ID NO:968、SEQ ID NO:978、SEQ ID NO:988およびSEQ ID NO:998に示されるVL領域からなる群より選択されるVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

10. 第1の結合ドメインが、

(1) SEQ ID NO:7に示されるVH領域およびSEQ ID NO:8に示されるVL領域；

(2) SEQ ID NO:17に示されるVH領域およびSEQ ID NO:18に示されるVL領域；

(3) SEQ ID NO:27に示されるVH領域およびSEQ ID NO:28に示されるVL領域；

(4) SEQ ID NO:37に示されるVH領域およびSEQ ID NO:38に示されるVL領域；

(5) SEQ ID NO:47に示されるVH領域およびSEQ ID NO:48に示されるVL領域；

(6) SEQ ID NO:57に示されるVH領域およびSEQ ID NO:58に示されるVL領域；

10

20

30

40

50

- (7) SEQ ID NO:67に示されるVH領域およびSEQ ID NO:68に示されるVL領域；
 (8) SEQ ID NO:77に示されるVH領域およびSEQ ID NO:78に示されるVL領域；
 (9) SEQ ID NO:167に示されるVH領域およびSEQ ID NO:168に示されるVL領域；
 (10) SEQ ID NO:177に示されるVH領域およびSEQ ID NO:178に示されるVL領域；
 (11) SEQ ID NO:187に示されるVH領域およびSEQ ID NO:188に示されるVL領域；
 (12) SEQ ID NO:197に示されるVH領域およびSEQ ID NO:198に示されるVL領域；
 (13) SEQ ID NO:207に示されるVH領域およびSEQ ID NO:208に示されるVL領域；
 (14) SEQ ID NO:217に示されるVH領域およびSEQ ID NO:218に示されるVL領域；
 (15) SEQ ID NO:227に示されるVH領域およびSEQ ID NO:228に示されるVL領域；
 (16) SEQ ID NO:317に示されるVH領域およびSEQ ID NO:318に示されるVL領域；
 (17) SEQ ID NO:327に示されるVH領域およびSEQ ID NO:328に示されるVL領域；
 (18) SEQ ID NO:337に示されるVH領域およびSEQ ID NO:338に示されるVL領域；
 (19) SEQ ID NO:347に示されるVH領域およびSEQ ID NO:348に示されるVL領域；
 (20) SEQ ID NO:357に示されるVH領域およびSEQ ID NO:358に示されるVL領域；
 (21) SEQ ID NO:367に示されるVH領域およびSEQ ID NO:368に示されるVL領域；
 (22) SEQ ID NO:377に示されるVH領域およびSEQ ID NO:378に示されるVL領域；
 (23) SEQ ID NO:387に示されるVH領域およびSEQ ID NO:388に示されるVL領域；
 (24) SEQ ID NO:587に示されるVH領域およびSEQ ID NO:588に示されるVL領域；
 (25) SEQ ID NO:597に示されるVH領域およびSEQ ID NO:598に示されるVL領域；
 (26) SEQ ID NO:607に示されるVH領域およびSEQ ID NO:608に示されるVL領域；
 (27) SEQ ID NO:617に示されるVH領域およびSEQ ID NO:618に示されるVL領域；
 (28) SEQ ID NO:627に示されるVH領域およびSEQ ID NO:628に示されるVL領域；
 (29) SEQ ID NO:637に示されるVH領域およびSEQ ID NO:638に示されるVL領域；
 (30) SEQ ID NO:647に示されるVH領域およびSEQ ID NO:648に示されるVL領域；
 (31) SEQ ID NO:657に示されるVH領域およびSEQ ID NO:658に示されるVL領域；
 (32) SEQ ID NO:667に示されるVH領域およびSEQ ID NO:668に示されるVL領域；
 (33) SEQ ID NO:677に示されるVH領域およびSEQ ID NO:678に示されるVL領域；
 (34) SEQ ID NO:687に示されるVH領域およびSEQ ID NO:688に示されるVL領域；
 (35) SEQ ID NO:697に示されるVH領域およびSEQ ID NO:698に示されるVL領域；
 (36) SEQ ID NO:707に示されるVH領域およびSEQ ID NO:708に示されるVL領域；
 (37) SEQ ID NO:717に示されるVH領域およびSEQ ID NO:718に示されるVL領域；
 (38) SEQ ID NO:727に示されるVH領域およびSEQ ID NO:728に示されるVL領域；
 (39) SEQ ID NO:737に示されるVH領域およびSEQ ID NO:738に示されるVL領域；
 (40) SEQ ID NO:747に示されるVH領域およびSEQ ID NO:748に示されるVL領域；
 (41) SEQ ID NO:757に示されるVH領域およびSEQ ID NO:758に示されるVL領域；
 (42) SEQ ID NO:767に示されるVH領域およびSEQ ID NO:768に示されるVL領域；
 (43) SEQ ID NO:777に示されるVH領域およびSEQ ID NO:778に示されるVL領域；
 (44) SEQ ID NO:787に示されるVH領域およびSEQ ID NO:788に示されるVL領域；
 (45) SEQ ID NO:797に示されるVH領域およびSEQ ID NO:798に示されるVL領域；
 (46) SEQ ID NO:807に示されるVH領域およびSEQ ID NO:808に示されるVL領域；
 (47) SEQ ID NO:817に示されるVH領域およびSEQ ID NO:818に示されるVL領域；
 (48) SEQ ID NO:827に示されるVH領域およびSEQ ID NO:828に示されるVL領域；
 (49) SEQ ID NO:837に示されるVH領域およびSEQ ID NO:838に示されるVL領域；
 (50) SEQ ID NO:967に示されるVH領域およびSEQ ID NO:968に示されるVL領域；
 (51) SEQ ID NO:977に示されるVH領域およびSEQ ID NO:978に示されるVL領域；
 (52) SEQ ID NO:987に示されるVH領域およびSEQ ID NO:988に示されるVL領域；ならびに
 (53) SEQ ID NO:997に示されるVH領域およびSEQ ID NO:998に示されるVL領域

からなる群より選択されるVH領域およびVL領域を含む、前記項目のいずれかの結合分子。

11. 第1の結合ドメインが、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:39
 、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:169、SEQ ID

10

20

30

40

50

NO:179、SEQ ID NO:189、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:209、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:319、SEQ ID NO:329、SEQ ID NO:339、SEQ ID NO:349、SEQ ID NO:359、SEQ ID NO:369、SEQ ID NO:379、SEQ ID NO:389、SEQ ID NO:589、SEQ ID NO:599、SEQ ID NO:609、SEQ ID NO:619、SEQ ID NO:629、SEQ ID NO:639、SEQ ID NO:649、SEQ ID NO:659、SEQ ID NO:669、SEQ ID NO:679、SEQ ID NO:689、SEQ ID NO:699、SEQ ID NO:709、SEQ ID NO:719、SEQ ID NO:729、SEQ ID NO:739、SEQ ID NO:749、SEQ ID NO:759、SEQ ID NO:769、SEQ ID NO:779、SEQ ID NO:789、SEQ ID NO:799、SEQ ID NO:809、SEQ ID NO:819、SEQ ID NO:829、SEQ ID NO:839、SEQ ID NO:969、SEQ ID NO:979、SEQ ID NO:989およびSEQ ID NO:999からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、項目10の結合分子。

12. SEQ ID NO:340またはSEQ ID NO:980に示されるアミノ酸配列を有する、項目1～6のいずれかの結合分子。 10

13. 350またはそれ未満、好ましくは320またはそれ未満のEC50 (pg/ml) によって特徴づけられる、前記項目のいずれかの結合分子。

14. BC E5 33-B11-B8、BC 5G9 92-E10、BC 5G9 91-D2-B10、BC B12 33-A4-B2、BC 3A4 37-A11-G1、BC A7-27 C4-G7、BC C3 33-D7-B1、BC C3 33-F8-E6 B1のいずれか一つのEC50 (pg/ml) と同等のEC50 (pg/ml) によって特徴づけられる、前記項目のいずれかの結合分子。

15. 項目1～14のいずれかの結合分子をコードする、核酸配列。

16. 項目15の核酸配列を含む、ベクター。

17. 項目15の核酸配列または項目16のベクターで形質転換またはトランスフェクトされた、宿主細胞。 20

18. 項目1～14のいずれかの結合分子の発現を可能にする条件下で項目17の宿主細胞を培養する工程、および、產生された結合分子を培養物から回収する工程を含む、項目1～14のいずれかの結合分子の製造プロセス。

19. 項目1～14のいずれかの結合分子または項目18のプロセスによって製造された結合分子を含む、薬学的組成物。

20. 形質細胞障害、BCMA発現と相關する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の予防、処置または寛解において使用するための、項目1～14のいずれかの結合分子または項目18のプロセスによって製造された結合分子。

21. 形質細胞障害、BCMA発現と相關する他のB細胞障害、および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の処置または寛解のための方法であって、それを必要とする対象に項目1～14のいずれかの結合分子または項目18のプロセスによって製造された結合分子を投与する工程を含む、方法。 30

22. 形質細胞障害が、多発性骨髄腫、形質細胞腫、形質細胞性白血病、マクログロブリン血症、アミロイドーシス、ヴァルデンストレームマクログロブリン血症、孤立性骨形質細胞腫、髄外性形質細胞腫、骨硬化性骨髄腫、重鎖病、意義不明の単クローニンググロブリン血症、およびくすぶり型多発性骨髄腫からなる群より選択される、項目21の方法。

23. 自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデスである、項目21の方法。

24. 項目1～14のいずれかの結合分子、項目15の核酸分子、項目16のベクター、および/または項目17の宿主細胞を含む、キット。 40

25. BCMAに結合できる結合分子、好ましくは抗体の生成のための、BCMAのエピトープクラスター3の使用であって、BCMAのエピトープクラスター3はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基24～41に対応する、使用。

26. BCMAに結合できる抗体、好ましくは二重特異性結合分子を生成する方法であって、(a) BCMAのエピトープクラスター3を含むポリペプチドで動物を免疫する工程であって、BCMAのエピトープクラスター3はSEQ ID NO: 1002に示される配列のアミノ酸残基24～41に対応する、工程、

(b) 該抗体を得る工程、ならびに

(c) 任意で、該抗体を、ヒトBCMAおよび好ましくはT細胞CD3受容体複合体に結合できる二重特異性結合分子に変換する工程 50

を含む方法。

【0243】

本発明は、特定の方法論、プロトコルまたは試薬に限定されず、それらは変更され得ることを理解されたい。本明細書に提供される議論および実施例は、個々の態様を説明する目的で提供されるにすぎず、本発明の範囲を限定することは意図されておらず、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ定義される。

本明細書の文書を通じて引用されているすべての刊行物および特許（すべての特許、特許出願、科学刊行物、製造元の仕様書、説明書等を含む）は、上記のものも以下のものも、それらの全体が参照により本明細書に組み入れられる。本明細書のいかなる事項も、本発明が先行発明であることを理由としてそのような開示よりも先の日付を主張する資格を有さないことの承認とみなされるべきではない。参照により組み入れられる書類が本明細書と相反または矛盾する程度まで、本明細書は任意のそのような書類よりも優先される。
10

【0244】

以下の図面および実施例の表記は、上記の本明細書に記載の結合分子のグループ（A）～（E）の一つとの関連を表している。別の言葉で言うと、図A [+番号] および実施例A [+番号] はグループ（A）に関するものであり、図B [+番号] および実施例B [+番号] はグループ（B）に関するものであり、図C [+番号] および実施例C [+番号] はグループ（C）に関するものであり、図D [+番号] および実施例D [+番号] はグループ（D）に関するものであり、図E [+番号] および実施例E [+番号] はグループ（E）に関するものである。
20

【図面の簡単な説明】

【0245】

【図1】ヒトBCMA（全長タンパク質のアミノ酸残基1～54）およびマウスBCMA（全長タンパク質のアミノ酸残基1～49）の細胞外ドメイン（ECD）の配列アラインメント。強調表示されているのは、エピトープクラスタリングのために指定された、キメラ構築物において交換された領域（ドメインまたはアミノ酸残基）である。システインは黒四角で示されている。ジスルフィド結合が示されている。

【図2】BCMA構築物のエピトープマッピング。フローサイトメトリーにより示された、CHO細胞の表面上に発現するヒトおよびマウスBCMA（図2a）ならびに7種類のキメラヒト・マウスBCMA構築物（図2b）。CHOにおけるヒトBCMAの発現は、モノクローナル抗ヒトBCMA抗体で検出した。マウスBCMAの発現は、モノクローナル抗マウスBCMA抗体で検出した。結合したモノクローナル抗体は、フィコエリトリンにコンジュゲートされた抗ラットIgG-Fc-特異的抗体で検出した。
30

【図A3】キメラBCMA構築物のエピトープマッピングにおいて検出された、エピトープクラスターE3およびE4に特異的な結合分子の例（実施例A3を参照のこと）。いくつかの結合分子はさらに、ヒトBCMAの39位（「E7」）のアミノ酸残基であるアルギニンに結合できる。

【図B3】ヒトおよびマウスBCMAに特異的な結合分子の例（実施例B3を参照のこと）。

【図C3】キメラBCMA構築物のエピトープマッピングにおいて検出された、エピトープクラスターE1およびE4に特異的な結合分子の例（実施例C3を参照のこと）。
40

【図D3】エピトープマッピングにおいて検出された、ヒトBCMAに結合し、マウスBCMAと交差反応せず、付加的に様々なキメラBCMA構築物に結合する結合分子の例（実施例D3を参照のこと）。

【図A4】Biacoreシステムを用いた、ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性結合分子（抗BCMA × 抗CD3）の結合定数の決定。抗原は、CM5チップ上に低～中密度（100RU）となるよう固定化した。結合体の希釈物をチップ表面に浮かべ、BiaEvalソフトウェアを用いて結合を決定した。各々の結合体の各々のオフレートおよび結合定数（KD）が、各グラフの下に示されている。

【図B4】親和性成熟させたscFv分子の機能性および結合強度を、ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞を用いたFACSにおいて分析した。その結果が、蛍光強度の対数 対 相対細胞
50

数をプロットした、大腸菌細胞ペリプラズム抽出物の1:3連続希釈物のFACSヒストグラムとして示されている。

【図C4】親和性成熟させたscFv分子の機能性および結合強度を、ヒトBCMAおよびマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞を用いたFACSにおいて分析した。その結果が、蛍光強度の対数 対 相対細胞数をプロットした、大腸菌細胞ペリプラズム抽出物の1:3連続希釈物のFACSヒストグラムとして示されている。

【図D4】Biacoreシステムを用いた、ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性結合分子（抗BCMA × 抗CD3）の結合定数の決定。抗原は、CM5チップ上に低～中密度（100RU）となるよう固定化した。結合体の希釈物をチップ表面に浮かべ、BiaEvalソフトウェアを用いて結合を決定した。各々の結合体の各々のオフレートおよび結合定数（KD）が、各グラフの下に示されている。
10

【図A5】18時間⁵¹クロム放出アッセイにおいて測定された、BCMA二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞。標的細胞：ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞（左図）およびマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞（右図）。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比：10:1。

【図D5】18時間⁵¹クロム放出アッセイにおいて測定された、BCMA二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞。標的細胞：ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞（左図）およびマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞（右図）。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比： 10:1。

【図A6】Biacoreシステムを用いた、ヒトおよびマカクBCMAに対するならびにヒトおよびマカクCD3に対するエピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の結合定数の決定。抗原は、CM5チップ上に低～中密度（100～200RU）となるよう固定化した。二重特異性抗体の希釈物をチップ表面に浮かべ、BiaEvalソフトウェアを用いて結合を決定した。各々の二重特異性抗体の各々のオンレートおよびオフレートならびに得られた結合定数（KD）が、各グラフの下に示されている。
20

【図A7】示されている細胞株：1) ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞、2) ヒトCD3陽性ヒトT細胞株HBP-ALL、3) マカクBCMAトランスフェクトCHO細胞、4) マカクT細胞株4119 L nPx、5) BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929および6) 未トランスフェクトCHO細胞、に対するエピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体のFACS分析。陰性対照[1)～6)]：上記のBCMA/CD3二重特異性抗体を含まない検出抗体。
30

【図A8】BCMA発現細胞に対するBCMA/CD3二重特異性抗体のScatchard分析。細胞を、飽和するまで漸増する濃度の单量体抗体と共にインキュベートした。抗体はフローサイトメトリーによって検出した。有効な濃度範囲が使用されたことを実証するために、3連の測定の値を双曲線としておよびシグモイド曲線としてプロットした。最大結合はScatchard評価を用いて決定し、各KD値を計算した。

【図A9】18時間51クロム放出アッセイにおいて測定された、ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対するエピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比： 10:1。

【図A10】48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された、エピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：未刺激のヒトPBMC。標的細胞：ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比： 10:1。
40

【図A11】BAFF-RおよびTACIトランスフェクトCHO細胞に対するエピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体のFACS分析。細胞株：1) ヒトBAFF-RトランスフェクトCHO細胞、2) ヒトTACIトランスフェクトCHO細胞、3) 多発性骨髄腫細胞株L363；陰性対照：上記のBCMA/CD3二重特異性抗体を含まない検出抗体。陽性対照：BAFF-R検出：抗ヤギ抗体PE (Jackson 705-116-147; 1:50) により検出されるヤギ抗ヒトBAFF-R (R&A F1162; 1:20) TACI検出：ヤギ抗ウサギ抗体PE (Sigma P9757; 1:20) によって検出されるウサギ抗TACI抗体 (abcam AB 79023; 1:100)。
50

【図A12】18時間51クロム放出アッセイにおいて測定された、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞。標的細胞：BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363（すなわち、天然発現細胞）。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比：10:1。

【図A13】48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：未刺激のヒトPBMC。標的細胞：ヒト多発性骨髄腫細胞株L363（天然BCMA発現体）。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比：10:1。

【図A14】48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：未刺激のヒトPBMC。標的細胞：BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比：10:1。 10

【図A15】48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：マカクT細胞株4119LnPx。標的細胞：マカクBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比：10:1。

【図A16】進行型NCI-H929異種移植モデルにおけるエピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の抗腫瘍活性（実施例A16を参照のこと）。

【図A17】標的細胞としてヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929、L-363およびOPM-2を、ならびにエフェクター細胞としてヒトPBMCを用いた、FACSベース細胞毒性アッセイ（48時間；E:T = 10:1）。図は、漸増濃度のエピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の下でのIL-2、IL-6、IL-10、TNFおよびIFN-について決定されたサイトカインレベル [pg/ml] を示している（実施例A22を参照のこと）。 20

【図A18】最大135 μg/kg/日の用量でのカニクイザルにおけるBCMA-30の7日間連続注入による循環CD3+レベルの減少の決定（実施例A23を参照のこと）。

【図A19】最大135 μg/kg/日の用量でのカニクイザルにおけるBCMA-30の7日間連続注入によるトキシコキネティクスデータ（実施例A23を参照のこと）。

【図A20】最大135 μg/kg/日の用量でのカニクイザルにおけるBCMA-30の7日間連続注入によるMCP-1放出の決定（実施例A23を参照のこと）。

【図A21】最大135 μg/kg/日の用量でのカニクイザルにおけるBCMA-30の7日間連続注入によるIL-2レベルの決定（実施例A23を参照のこと）。

【図A22】最大135 μg/kg/日の用量でのカニクイザルにおけるBCMA-30の7日間連続注入によるIL-6レベルの決定（実施例A23を参照のこと）。 30

【図E3】キメラBCMA構築物のエピトープマッピングによって検出された、エピトープクラスターE3に特異的な結合分子の例（実施例E3を参照のこと）。

【図E4】Biacoreシステムを用いた、ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性結合分子（抗BCMA × 抗CD3）の結合定数の決定。抗原は、CM5チップ上に低～中密度（100RU）となるよう固定化した。結合体の希釈物をチップ表面に浮かべ、BiaEvalソフトウェアを用いて結合を決定した。各々の結合体の各々のオフレートおよび結合定数（KD）が、各グラフの下に示されている。

【図E5】18時間⁵¹クロム放出アッセイにおいて測定された、BCMA二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞。標的細胞：ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞（左図）およびマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞（右図）。エフェクター 対 標的細胞（E:T）比：10:1。 40

【図E6】Biacoreシステムを用いた、ヒトおよびマカクBCMAに対するならびにヒトおよびマカクCD3に対するエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の結合定数の決定。抗原は、CM5チップ上に低～中密度（100～200RU）となるよう固定化した。二重特異性抗体の希釈物をチップ表面に浮かべ、BiaEvalソフトウェアを用いて結合を決定した。各々の二重特異性抗体の各々のオンレートおよびオフレートならびに得られた結合定数（KD）が、各グラフの下に示されている。

【図E7】示されている細胞株：1) ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞、2) ヒトCD3陽性ヒトT細胞株HBP-ALL、3) マカクBCMAトランスフェクトCHO細胞、4) マカクT細胞株4119 LnPx、5) BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929および6) 未トランスフェクトCHO細胞 50

、に対するエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体のFACS分析。陰性対照 [1) ~ 6)] : 上記のBCMA/CD3二重特異性抗体を含まない検出抗体。

【図 E 8】BCMA発現細胞に対するBCMA/CD3二重特異性抗体のScatchard分析。細胞を、飽和するまで漸増する濃度の単量体抗体と共にインキュベートした。抗体はフローサイトメトリーによって検出した。有効な濃度範囲が使用されたことを実証するために、3連の測定の値を双曲線としておよびシグモイド曲線としてプロットした。最大結合はScatchard評価を用いて決定し、各KD値を計算した。

【図 E 9】18時間51クロム放出アッセイにおいて測定された、ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対するエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞。エフェクター 対 標的細胞 (E:T) 比 : 10:1。 10

【図 E 10】48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された、エピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：未刺激のヒトPBMC。標的細胞：ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞。エフェクター 対 標的細胞 (E:T) 比 : 10:1。

【図 E 11】BAFF-RおよびTACIトランスフェクトCHO細胞に対するエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体のFACS分析。細胞株：1) ヒトBAFF-RトランスフェクトCHO細胞、2) ヒトTACIトランスフェクトCHO細胞、3) 多発性骨髄腫細胞株L363；陰性対照：上記のBCMA/CD3二重特異性抗体を含まない検出抗体。陽性対照：BAFF-R検出：抗ヤギ抗体PE (Jackson 705-116-147; 1:50) により検出されるヤギ抗ヒトBAFF-R (R&D AF1162; 1:20) TACI検出：ヤギ抗ウサギ抗体PE (Sigma P9757; 1:20) によって検出されるウサギ抗TACI抗体 (abcam AB 79023; 1:100)。 20

【図 E 12】18時間51クロム放出アッセイにおいて測定された、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞。標的細胞：BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363（すなわち、天然発現細胞）。エフェクター 対 標的細胞 (E:T) 比 : 10:1。

【図 E 13】48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：未刺激のヒトPBMC。標的細胞：ヒト多発性骨髄腫細胞株L363（天然BCMA発現体）。エフェクター 対 標的細胞 (E:T) 比 : 10:1。 30

【図 E 14】48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：未刺激のヒトPBMC。標的細胞：BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929。エフェクター 対 標的細胞 (E:T) 比 : 10:1。

【図 E 15】48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された、BCMA/CD3 二重特異性抗体の細胞毒性活性。エフェクター細胞：マカクT細胞株4119LnPx。標的細胞：マカクBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞。エフェクター 対 標的細胞 (E:T) 比 : 10:1。

【図 E 16】進行型NCI-H929異種移植モデルにおけるエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の抗腫瘍活性（実施例E16を参照のこと）。

【図 E 17】標的細胞としてヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929、L-363およびOPM-2を、ならびにエフェクター細胞としてヒトPBMCを用いた、FACSベース細胞毒性アッセイ（48時間；E:T = 10:1）。図は、漸増濃度のエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の下でのIL-2、IL-6、IL-10、TNFおよびIFN-について決定されたサイトカインレベル [pg /mI] を示している（実施例E22を参照のこと）。 40

【実施例】

【0246】

以下の実施例により本発明を解説する。これらの実施例は、本発明の範囲を限定するものとみなされるべきではない。実施例は解説の目的で含まれるものであり、本発明は添付の特許請求の範囲によってのみ制限される。

【0247】

実施例A

実施例A1

キメラBCMAを発現するCHO細胞の生成

キメラエピトープマッピング分子の構築のために、ヒトBCMAの各エピトープドメインのアミノ酸配列または単一のアミノ酸残基をマウス配列に変換した。以下の分子を構築した。

【0248】

- ・ヒトBCMA ECD/E1マウス (SEQ ID NO: 1009)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター1 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基1~7) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基1~4) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基1~3の欠失およびG6Qの変異

【0249】

- ・ヒトBCMA ECD/E2マウス (SEQ ID NO: 1010)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター2 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基8~21) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基5~18) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるS9F、Q10HおよびN11Sの変異

【0250】

- ・ヒトBCMA ECD/E3マウス (SEQ ID NO: 1011)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター3 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基24~41) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基21~36) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基31および32の欠失ならびにQ25H、S30N、L35AおよびR39Pの変異

【0251】

- ・ヒトBCMA ECD/E4マウス (SEQ ID NO: 1012)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター4 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基42~54) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基37~49) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるN42D、A43P、N47S、N53YおよびA54Tの変異

【0252】

- ・ヒトBCMA ECD/E5マウス (SEQ ID NO: 1013)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の22位のアミノ酸残基（イソロイシン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（リジン、19位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるI22Kの変異

【0253】

- ・ヒトBCMA ECD/E6マウス (SEQ ID NO: 1014)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の25位のアミノ酸残基（グルタミン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（ヒスチジン、22位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるQ25Hの変異

【0254】

- ・ヒトBCMA ECD/E7マウス (SEQ ID NO: 1015)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の39位のアミノ酸残基（アルギニン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（プロリン、34位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるR39Pの変異。

【0255】

A) cDNA構築物を哺乳動物発現ベクターpEF-DHFRにクローニングし、CHO細胞に安定的に

10

20

30

40

50

トランスフェクトした。CHO細胞におけるヒトBCMAの発現を、モノクローナル抗ヒトBCMA抗体を用いるFACSアッセイにおいて検証した。マウスBCMAの発現は、モノクローナル抗マウスBCMA抗体を用いて実証した。使用したBCMA抗体の濃度は、PBS/2%FCS中10 μg/mlであった。結合したモノクローナル抗体を、抗ラットIgG-Fc -PE (PBS/2%FCS中1:100 ; Jackson Immuno-Research # 112-116-071) を用いて検出した。陰性対照として、細胞を、第1の抗体に代えてPBS/2%FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器 (Becton Dickinson) におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア (バージョン7.6) によって分析した。ヒト・マウスBCMAキメラの表面発現に関して、トランスフェクトされたCHO細胞を、様々な抗BCMA抗体を用いたフローサイトメトリー アッセイにおいて分析および確認した (図2) 。

10

【 0 2 5 6 】

B) ヒト、マカク、マウスおよびヒト / マウスキメラ膜貫通BCMAを発現するCHO細胞の生成のために、ヒト、マカク、マウスBCMAおよびヒト・マウスBCMAキメラのコード配列 (GenBank アクセッション番号 NM_001192 [ヒト] ; NM_011608 [マウス] および XM_001106892 [マカク] として公開されているBCMA配列) を、標準的な方法にしたがい遺伝子合成によって得た。遺伝子合成フラグメントは、ヒト配列の各エピトープドメインがマウス配列と交換されているキメラの場合、各々、最初に該構築物の真核生物発現のためのKozak部位および19アミノ酸免疫グロブリンリーダーペプチドのコード配列を、その後にインフレームでBCMAタンパク質のコード配列を含むよう設計した。

【 0 2 5 7 】

20

ヒトBCMA ECD/E4マウスおよびヒトBCMA構築物を除いて、BCMAタンパク質の細胞外ドメインのコード配列の後に、インフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にヒトEpCAMの細胞内ドメイン (アミノ酸226 ~ 314 ; GenBank アクセッション番号 NM_002354 として公開されている配列) 、となるようにした。

【 0 2 5 8 】

30

すべてのコード配列の後に停止コドンが続くようにした。また、遺伝子合成フラグメントを、適当な制限部位が導入されるよう設計した。遺伝子合成フラグメントを、pEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした (pEF-DHFRはRaum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001) 141-150に記載されている) 。上記手順はすべて、標準的な方法にしたがい行った (Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York (2001)) 。抗原ごとに、配列検証済みのヌクレオチド配列を有するクローンを、該構築物の真核生物発現のためのDHFR欠損CHO細胞にトランスフェクトした。DHFR欠損CHO細胞における真核生物タンパク質発現は、Kaufman R.J. (1990) Methods Enzymol. 185, 537-566に記載されているようにして行った。構築物の遺伝子増幅を、メトトレキサート (MTX) の濃度が最大20 nM MTXの最終濃度になるまで増加させることによって誘導した。

【 0 2 5 9 】

実施例A2

2.1 HEK293細胞における一過的発現

配列検証済みのヌクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、製造元のプロトコルにしたがうFreeStyle 293発現システム (Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Germany) におけるトランスフェクションおよびタンパク質発現のために、使用した。発現されたタンパク質を含む上清を取得し、細胞を遠心分離により除去し、そして上清を -20 °C で保存した。

40

【 0 2 6 0 】

2.2 CHO細胞における安定的発現

配列検証済みのヌクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、該構築物の真核生物発現のために、DHFR欠損CHO細胞にトランスフェクトした。DHFR欠損CHO細胞における真核生物タンパク質発現は、Kaufman R.J. (1990) Methods Enzymol. 185, 537-566に記載されているようにして行った。構築物の遺伝子増幅を、メトトレキサート (MTX) の

50

濃度を20 nM MTXの最終濃度になるまで増加させることによって誘導した。静置培養で2回継代した後、細胞を、収集前の7日間、ヌクレオシドフリーHyQ PF CHO液体ダイズ培地（4.0 mM L-グルタミンを含み、0.1% Pluronic F-68を含む；HyClone）を含むローラーボトル中で成長させた。細胞を遠心分離によって除去し、発現されたタンパク質を含む上清を-20°で保存した。

【0261】

2.3 タンパク質の精製

可溶性のBCMAタンパク質の精製は、以下のように行った。Akta（登録商標）エクスプローラシステム（GE Healthcare）およびUnicorn（登録商標）ソフトウェアをクロマトグラフィーに使用した。ZnCl₂を負荷したFractogel EMDキレート（登録商標）（Merck）を製造元の提供するプロトコルにしたがい用いて、固定化金属親和性クロマトグラフィー（「IMAC」）を行った。カラムを緩衝液A（20mMリン酸ナトリウム緩衝液pH7.2、0.1M NaCl）で平衡化し、ろ過した（0.2 μmの）細胞培養上清を3ml/分の流速でカラム（10ml）に適用した。未結合の試料を除去するため、カラムを緩衝液Aで洗浄した。結合したタンパク質を、以下の手順にしたがい、2段勾配の緩衝液B（20mMリン酸ナトリウム緩衝液pH7.2、0.1 M NaCl、0.5Mイミダゾール）を用いて溶出させた：

第1段階：6カラム容積の10%緩衝液B

第2段階：6カラム容積の100%緩衝液B。

第2段階により溶出したタンパク質画分をさらなる精製のために集めた。すべての化合物は研究グレードのものであり、Sigma（Deisenhofen）またはMerck（Darmstadt）から購入した。

ゲルろ過クロマトグラフィーは、Equi緩衝液（HEK細胞で発現させたタンパク質については10mMケエン酸塩、25mMリジン・HCl、pH7.2、CHO細胞で発現させたタンパク質についてはPBS pH7.4）で平衡化させたHiLoad 16/60 Superdex 200分取グレードカラム（GE/Amersham）において行った。溶出したタンパク質試料（流速1ml/分）を、検出のために標準的なSDS-PAGEおよびウェスタンプロットに供した。タンパク質濃度は、OD280nmを用いて決定した。

HEK293細胞における一過的発現を通じて得られたタンパク質を、免疫処置に使用した。CHO細胞における安定的発現を通じて得られたタンパク質を、結合体の選択および結合の測定に使用した。

【0262】

実施例A3

マウスscFvフラグメントのエピトープクラスタリング

ヒトもしくはマウスBCMAまたはキメラBCMA分子でトランスフェクトされた細胞を、ヒト/マカクBCMAに結合するscFvを含む粗精製未希釈ペリプラズム抽出物で染色した。結合したscFvを、1 μg/mlの抗FLAG抗体（Sigma F1804）およびR-PE標識抗マウスFc特異的抗体（1:100；Dianova #115-116-071）で検出した。すべての抗体を、2% FCSを含むPBSで希釈した。陰性対照として、細胞を、ペリプラズム抽出物の代わりにPBS/2% FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器（Becton Dickinson）におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア（バージョン7.6）によって分析した。

【0263】

実施例A4

可溶性ヒトおよびマカクBCMAの異なる組み換え形態の入手

A) ヒトおよびアカゲザルBCMAのコード配列（GenBankにおいて公開、アクセスション番号NM_001192[ヒト]、XM_001106892[アカゲザル]）、ヒトアルブミン、ヒトFc 1およびマウスアルブミンのコード配列を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれならびにヒトアルブミン、ヒトIgG1 Fcおよびマウスアルブミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質ならびにBCMAの細胞外ドメインのみを含む可溶性タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性ヒトおよびマカクBCMAタンパク質の発現のための構築物を生成するために、cDNAフラグメントを、標準的プロトコルにしたがう上記の全長BCMA cDNAのPCR変異誘発お

10

20

30

40

50

および分子クローニングによって取得した。

ヒトアルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびアカゲザルBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒト血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスIgG1との融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒトIgG1のヒンジおよびFc部分のコード配列、その後にインフレームでヘキサヒスチジンタグのコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスアルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでマウス血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

可溶性細胞外ドメイン構築物については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly1リンカーのコード配列、その後にインフレームでFLAGタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

cDNAフラグメントをまた、フラグメントの最初および最後に制限部位を導入するよう設計した。導入された制限部位である5'末端のEcoRIおよび3'末端のSallを、以下のクローニング手順で使用した。cDNAフラグメントを、EcoRIおよびSallを通じてpEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした(pEF-DHFRは、Raum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001) 141-150に記載されている)。上記の手順はすべて、標準的なプロトコル(Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York (2001))にしたがい行った。

【0264】

B) 上記のヒトおよびマカクBCMAのコード配列ならびにヒトアルブミン、ヒトFc1、マウスFc1、マウスFc2a、マウスアルブミン、ラットアルブミン、ラットFc1およびラットFc2bのコード配列を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれならびにヒトアルブミン、ヒトIgG1Fc、マウスIgG1Fc、マウスIgG2aFc、マウスアルブミン、ラットIgG1Fc、ラットIgG2bおよびラットアルブミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質ならびにBCMAの細胞外ドメインのみを含む可溶性タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性ヒトおよびマカクBCMAタンパク質の発現のための構築物を生成するために、cDNAフラグメントを、標準的プロトコルにしたがう上記の全長BCMA cDNAのPCR変異誘発および分子クローニングによって取得した。

アルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位および19アミノ酸免疫グロブリンリーダーペプチドのコード配列、その後にインフレームでそれぞれのBCMAタンパク質の細胞外ドメインのコード配列、その後にインフレームで人工

10

20

30

40

50

Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでそれぞれの血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ
(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

IgG Fcとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位および19アミノ酸免疫グロブリンリーダーペプチドのコード配列、その後にインフレームでそれぞれのBCMAタンパク質の細胞外ドメインのコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、ただしヒトIgG1 Fcの場合は人工Ser1-Gly1リンカーを使用、その後にインフレームでそれぞれのIgGのヒンジおよびFc部分のコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

可溶性細胞外ドメイン構築物については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位および19アミノ酸免疫グロブリンリーダーペプチドのコード配列、その後にインフレームでそれぞれのBCMAタンパク質の細胞外ドメインのコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly1リンカーのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

構築物のクローニングのために、適当な制限部位を導入した。cDNAフラグメントはすべて、pEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした(pEF-DHFRは、Raum et al. 2001に記載されている)。上記の手順はすべて、標準的なプロトコル(Sambrook, 2001)にしたがい行った。

以下の構築物は、別々のエピトープに対して向けられたパンニングが可能なように設計した。マウス・ヒトBCMAキメラのおよびマウス・マカクBCMAキメラのコード配列(マウス、ヒトおよびマカクBCMAの配列は上記の通り)ならびにマウスアルブミンおよびマウスFc 1のコード配列を、マウス・ヒトおよびマウス・マカクBCMAキメラのそれならびにマウスIgG1 Fcおよびマウスアルブミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性マウス・ヒトおよびマウス・マカクBCMAキメラの発現のための構築物を生成するため、そのヒトおよびマカク配列のそれに対して変異が加えられたそれぞれのエピトープドメインを含むマウスBCMA(アミノ酸1~49)のcDNAフラグメントを、標準的なプロトコルにしたがう遺伝子合成によって得た。構築物のクローニングを上記のようにおよび標準的なプロトコル(Sambrook, 2001)にしたがい行った。

以下の分子を構築した:

- ・アミノ酸1~4ヒト、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸1~4ヒト、マウスアルブミン
- ・アミノ酸1~4アカゲザル、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸1~4アカゲザル、マウスアルブミン
- ・アミノ酸5~18ヒト、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸5~18ヒト、マウスアルブミン
- ・アミノ酸5~18アカゲザル、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸5~18アカゲザル、マウスアルブミン
- ・アミノ酸37~49ヒト、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸37~49ヒト、マウスアルブミン
- ・アミノ酸37~49アカゲザル、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸37~49アカゲザル、マウスアルブミン

実施例A5

5.1 ヒトおよびマカクBCMAおよびCD3に対する二重特異性抗体の親和性のBiacoreベースの決定

BCMAに対する標的結合を決定するため、ヒト血清アルブミン（ALB）を含む組み換えBCMA融合タンパク質を用いてBiacore分析実験を行った。CD3に対する親和性の測定のために、ヒト抗体Fc部分に融合されたCD3イプシロン（CD3e）のN末端27アミノ酸を有する組み換え融合タンパク質を使用した。この組み換えタンパク質は、ヒトCD3e 1-27版およびカニクリイザルCD3e版があり、どちらも二重特異性抗体のCD3結合部分のエピトープを保有している。

詳細を述べると、CM5センサーチップ（GE Healthcare）に、製造元のマニュアルにしたがい酢酸緩衝液pH4.5を用いておよそ100～150RUの各組み換え抗原を固定化した。二重特異性抗体試料を、HBS-EP泳動緩衝液（GE Healthcare）で希釈した5つの濃度：50nM、25nM、12.5nM、6.25nMおよび3.13nMでロードした。流速は、30～35 μl/minで3分間であり、その後にHBS-EP泳動緩衝液を、再度30～35 μl/mlの流速で8分間適用した。チップの再生は、10mMグリシン 0.5M NaCl pH2.45を用いて行った。データセットを、BiaEvalソフトウェアを用いて分析した（図A4を参照のこと）。通常、2回の独立した実験を行った。
10

【0266】

5.2 ヒトおよびマカクBCMAに対する結合親和性

ヒトおよびマカクBCMAに対するBCMA/CD3二重特異性抗体の結合親和性を、マウスアルブミン（ALB）を含む組み換えBCMA融合タンパク質を用いたBiacore分析によって決定した。
20

【0267】

詳細を述べると、CM5センサーチップ（GE Healthcare）に、製造元のマニュアルにしたがい酢酸緩衝液pH4.5を用いておよそ150～200RUの各組み換え抗原を固定化した。二重特異性抗体試料を、HBS-EP泳動緩衝液（GE Healthcare）で希釈した5つの濃度：50nM、25nM、12.5nM、6.25nMおよび3.13nMでロードした。BCMAの親和性の決定については、流速を35 μl/minで3分間とし、その後にHBS-EP泳動緩衝液を、再度35 μl/mlの流速で10、30または60分間適用した。チップの再生は、10mMグリシン 0.5M NaCl pH1.5および6M塩化ゲアニジン溶液の1:1混合物からなる緩衝液を用いて行った。データセットを、BiaEvalソフトウェアを用いて分析した（図A6を参照のこと）。通常、2回の独立した実験を行った。
30

【0268】

ヒトおよびマカクCD3イプシロンに対する結合の確認を、BCMA結合に適用したのと同じ濃度を用いた1回の実験において行い；オフレートの決定を10分間の解離時間で行った。

【0269】

本発明によるBCMA/CD3二重特異性抗体すべて、すなわちエピトープクラスター「E3/E4 ± E7」の該抗体は、ヒトBCMAに対して、サブナノモル範囲の高い親和性を示した。マカクBCMAに対する結合もそれに釣り合ったものであり、サブナノモル範囲の親和性を示した。BCMA/CD3二重特異性抗体の親和性および親和性ギャップが表2に示されている。

【0270】

（表2）Biacore分析によって決定されたヒトおよびマカクBCMAに対するエピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性および算出された親和性ギャップ（マカクBCMA：ヒトBCMA）
40

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | <i>hu BCMA [nM]</i> | <i>ma BCMA [nM]</i> | 親和性ギャップ <i>ma BCMA : hu BCMA</i> |
|-----------------------------|---------------------|---------------------|---|
| BCMA-24 | 0.11 | 0.18 | 1.6 |
| BCMA-30 | 0.21 | 0.20 | 1:1.1 |
| BCMA-28 | 0.18 | 0.21 | 1.2 |
| BCMA-25 | 0.29 | 0.30 | 1.0 |
| BCMA-27 | 0.25 | 0.12 | 1 : 2.1 |
| BCMA-31 | 0.24 | 0.35 | 1.5 |
| BCMA-29 | 0.34 | 0.27 | 1 : 1.3 |
| | | | |
| BCMA-43 | 0.50 | 0.29 | 1 : 1.7 |
| BCMA-40 | 0.67 | 0.25 | 1 : 2.7 |
| BCMA-49 | 0.37 | 0.29 | 1 : 1.3 |
| BCMA-44 | 0.17 | 0.095 | 1 : 1.8 |
| BCMA-41 | 0.32 | 0.15 | 1 : 2.1 |
| BCMA-47 | 0.24 | 0.092 | 1 : 2.6 |
| BCMA-50 | 0.35 | 0.15 | 1 : 2.3 |
| BCMA-45 | 0.43 | 0.15 | 1 : 2.9 |
| BCMA-42 | 0.37 | 0.11 | 1 : 3.4 |
| BCMA-48 | 0.46 | 0.11 | 1 : 4.2 |
| BCMA-51 | 0.41 | 0.20 | 1 : 2.1 |

【 0 2 7 1 】

5.3 ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性抗体の親和性のBiacoreベースの決定

CM5チップ上の組み換え可溶性BCMAに対するBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性のBiacore測定を、より長い解離期間（以前の実験で使用した10分間に代えて60分間）を使用してKDおよび特にオフレートを再確認するために繰り返した。試験したBCMA/CD3二重特異性抗体のすべてについて、各々5つの異なる濃度を用いる2回の独立した親和性測定を行った。

【 0 2 7 2 】

エピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性は、明確に、サブナノモルであった。表3の例を参照のこと。

【 0 2 7 3 】

（表3）長い解離時間用いたBiacore実験におけるエピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性（KD）（各々2回の独立した実験）

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | KD [nM] ヒトBCMA | KD [nM] マカクBCMA |
|-------------------------|-----------------------|------------------------|
| BCMA-30 | 0.302 ± 0.074 | 0.284 ± 0.047 |
| BCMA-50 | 0.514 ± 0.005 | 0.196 ± 0.012 |

【 0 2 7 4 】**実施例A6****二重特異性結合および種間交差反応性**

ヒトおよびマカクBCMAおよびCD3への結合を確認するため、二重特異性抗体を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれでトランスフェクトしたCHO細胞、ネイティブのヒトBCMAを発

10

20

30

40

50

現するヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929、CD3発現ヒトT細胞白血病細胞株HPB-ALL (DSMZ, Braunschweig, ACC483) およびCD3発現マカクT細胞株4119LnPx (Knappe A, et al., Biol od, 2000, 95, 3256-3261) を用いたフローサイトメトリーによって試験した。さらに、未トランスフェクトCHO細胞を陰性対照として使用した。

【 0 2 7 5 】

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を、5 µg/mlの濃度の精製された二重特異性抗体50 µlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞をPBS/2% FCSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体 (Qiagen ; 50 µl PBS/2% FCSで1:20希釈) で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、PBS/2% FCSで1:100希釈された、フィヨエリトリリンにコンジュゲートされたFc 特異的抗体 (Dianova) で検出した。試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した (両方ともBecton Dickinson製) 。
10

【 0 2 7 6 】

エピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体は、ヒトおよびマカクBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞、ヒトBCMAを発現する多発性骨髄腫細胞株NCI-H929ならびにヒトおよびマカクT細胞を染色した。さらに、未トランスフェクトCHO細胞は染色されなかった (図A7を参照のこと) 。

【 0 2 7 7 】

実施例A7
ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性抗体の親和性のScatchardベースの決定
20

Scatchard分析では、各々の細胞株に対する二重特異性抗体の1価結合を正確に決定するため、Micrometが開発した1価検出システム (抗His Fab/Alexa 488) を用いて飽和結合実験を行う。

それぞれの細胞株 (ヒトBCMAを組換え発現するCHO細胞株、マカクBCMAを組換え発現するCHO細胞株) 2×10^4 細胞を、100nMから始まるそれぞれのBCMA二重特異性抗体の3連の希釈シリーズ (1:2の8段階希釈) 各50 µlと共にインキュベートし、その後に攪拌しながら4

で16時間インキュベートし、1回の残留物の洗浄工程を行う。次に、細胞を30 µlの抗His Fab/Alexa488溶液 (Micromet ; 30 µg/ml) と共にさらに30分間インキュベートする。1回の洗浄工程の後、細胞を、3.5%ホルムアルデヒドを含む150 µlのFACS緩衝液に再懸濁し、さらに15分間インキュベートし、遠心分離し、FACS緩衝液に再懸濁し、そしてFACSCantoII機およびFACSDivaソフトウェアを用いて分析する。データは、2回の独立した実験セットから得る。値を、双曲線の結合曲線としてプロットする。それぞれのScatchard分析から最大結合 (Bmax) を推定する計算を行う。それぞれのKDを反映する最大半量結合 (half-maximal binding) 時の二重特異性抗体の濃度を決定する。3連の測定の値を双曲線としてプロットする。最大結合を、Scatchard評価を用いて決定し、それぞれのKDを計算する。
30

【 0 2 7 8 】

ヒトまたはマカクBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対するBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性を、ヒトおよびマカクBCMA間の潜在的な親和性ギャップを測定する上で最も信頼性の高い方法である、Scatchard分析によって決定した。
40

【 0 2 7 9 】

BCMA抗原を発現する細胞を、それぞれの単量体BCMA/CD3二重特異性抗体の濃度を飽和に達するまで増やしつつインキュベートした (16時間) 。結合した二重特異性抗体を、フローサイトメトリーによって検出した。それぞれのKDを反映する最大半量結合時のBCMA/CD3二重特異性抗体の濃度を決定した。

【 0 2 8 0 】

最小結合から最適結合までの適当な濃度範囲を実証するために、3連の測定の値を双曲線およびS字曲線としてプロットした。最大結合 (Bmax) を、Scatchard評価を用いて決定し (図A8) 、それぞれのKDを計算した。表4に示される値は、各BCMA/CD3 二重特異性抗体につき2回の独立した実験から得られたものである。
50

【0281】

細胞ベースのScatchard分析により、エピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体のヒトBCMAに対する親和性はサブナノモルであり、1.9~2.9の小さな種間BCMA親和性ギャップを示すことが確認された。

【0282】

エピトープクラスタリング（実施例A1およびA2を参照のこと）の中で、BCMAのエピトープクラスター1および4（「E1/E4」）に結合できる別の抗体グループを同定した。エピトープクラスター1は

MLQMAGQQ (SEQ ID NO: 1018)

であり、エピトープクラスター4は

NASVTNSVKGTNA (SEQ ID NO: 1019)

である。エピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体とは対照的に、エピトープクラスター「E1/E4」の抗体は、3.9~4.5というより高いヒト・マカクBCMA間親和性ギャップを示す。

【0283】

（表4）細胞ベースのScatchard分析（各々2回の独立した実験）におけるエピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性（KD）および算出されたKDマカクBCMA / KDヒトBCMAの親和性ギャップ

| BCMA/CD3 | KD [nM] | KD [nM] | x倍のKD差異 |
|-----------------|----------------|----------------|---------------------------|
| 二重特異性抗体 | ヒトBCMA | マカクBCMA | KD ma 対 KD hu BCMA |
| BCMA-30 | 0.85 ± 0.07 | 2.50 ± 1.12 | 2.9 |
| BCMA-50 | 0.93 ± 0.08 | 1.75 ± 0.62 | 1.9 |

【0284】

実施例A8

細胞毒性活性

8.1 刺激されたヒトT細胞を用いたクロム放出アッセイ

CD8⁺T細胞について濃縮され刺激されたT細胞を、以下のように得た：

ペトリ皿（直径145mm、Greiner bio-one GmbH, Kremsmunster）を、最終濃度1 μg/mlの市販の抗CD3特異的抗体（OKT3、Orthoclone）を用いて、37℃で1時間コーティングした。未結合のタンパク質を、PBSを用いた1回の洗浄工程により除去した。安定化型グルタミン/10% FCS/IL-2 20 U/ml（Proleukin（登録商標）、Chiron）を含む120mlのRPMI 1640中3~5 × 10⁷個のヒトPBMCを、プレコートしたペトリ皿に添加し、2日間刺激した。3日目に細胞を回収し、RPMI 1640で1回洗浄した。IL-2を最終濃度20 U/mlとなるよう添加し、そして細胞を再度、上記と同じ細胞培養培地中で1日培養した。CD8⁺細胞毒性Tリンパ球（CTL）を、Dynal-Beadsを製造元のプロトコルにしたがい用いてCD4⁺T細胞およびCD56⁺NK細胞を枯渇させることにより、濃縮した。

【0285】

マカクまたはヒトBCMAトランスフェクトCHO標的細胞（BCMA陽性標的細胞）をPBSで2回洗浄し、そして50% FCSを含む最終容積100 μlのRPMI中11.1 MBqの⁵¹Crを用いて37℃で60分間標識した。その後、標識された標的細胞を5ml RPMIで3回洗浄し、その後これを細胞毒性アッセイに使用した。アッセイは、96ウェルプレートにおいて、総容積200 μlの補充されたRPMI中、10:1のE:T比で行った。出発濃度0.01~1 μg/mlの精製された二重特異性抗体およびその3倍希釈物を使用した。アッセイにおけるインキュベート時間は、18時間であった。細胞毒性は、最大溶解（Triton-Xの添加）と自然溶解（エフェクター細胞なし）の差に対する上清中に放出されたクロムの相対値として決定した。すべての測定を4連で行った。上清中のクロム活性の測定は、Wizard 3''カウンター（Perkin Elmer Life Sciences GmbH, Koln, Germany）において行った。実験データの分析は、Windows版Prism 5（バージョン5.0、GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA）を用いて行

10

20

30

40

50

った。分析プログラムによってシグモイド用量応答曲線から計算されたEC50値を、細胞毒性活性の比較に使用した（図A5を参照のこと）。

【0286】

8.2 ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対して刺激されたヒトエフェクターT細胞をリダイレクトする効力

BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞としてヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞を、およびエフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞を用いた、51クロム（⁵¹Cr）放出細胞毒性アッセイにおいて分析した。この実験は、実施例A8.1に記載されるようにして行った。

【0287】

エピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体はすべて、ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対して1桁台のpg/ml～2桁台のpg/mlの範囲のEC50値の強力な細胞毒性活性を示した（図A9および表5）。このようにエピトープクラスターE3/E4±E7は、非常に強力な二重特異性抗体媒介細胞毒性活性を支える非常に好ましいエピトープ・活性関係(epitope-activity relationship)を提供する。

【0288】

（表5）標的細胞としてヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞を、およびエフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞を用いた、51クロム（⁵¹Cr）放出細胞毒性アッセイにおいて分析された、エピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

| BCMA/CD3二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|-----------------|--------------|------|
| BCMA-24 | 4.6 | 0.91 |
| BCMA-30 | 6 | 0.83 |
| BCMA-28 | 5.7 | 0.90 |
| BCMA-25 | 9.7 | 0.87 |
| BCMA-27 | 5.4 | 0.90 |
| BCMA-31 | 11 | 0.89 |
| BCMA-29 | 9 | 0.89 |
| | | |
| BCMA-43 | 12 | 0.74 |
| BCMA-40 | 15 | 0.77 |
| BCMA-49 | 22 | 0.76 |
| BCMA-44 | 13 | 0.78 |
| BCMA-41 | 9.9 | 0.76 |
| BCMA-47 | 8.0 | 0.80 |
| BCMA-50 | 18 | 0.77 |
| BCMA-45 | 14 | 0.81 |
| BCMA-42 | 22 | 0.83 |
| BCMA-48 | 31 | 0.76 |
| BCMA-51 | 30 | 0.83 |

【0289】

8.3 未刺激のヒトPBMCを用いたFACSベースの細胞毒性アッセイ

10

20

30

40

50

エフェクター細胞の単離

ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を、血液バンクが輸血のために回収した血液の副産物である濃縮リンパ球調製物（軟膜）からFicoll密度勾配遠心分離によって調製した。軟膜は、国内の血液バンクによって提供され、PBMCを、血液回収と同日に調製した。Ficoll密度遠心分離およびDulbecco PBS（Gibco）による十分な洗浄の後、残った赤血球を、赤血球溶解緩衝液（155mM NH₄Cl、10mM KHCO₃、100 μM EDTA）とのインキュベーションを通じてPBMCから除去した。血小板は、PBMCの100 × gでの遠心分離により上清を通じて除去した。残ったリンパ球は、主としてBおよびTリンパ球、NK細胞および单球を含んでいる。PBMCを、10% FCS（Gibco）を含むRPMI培地（Gibco）中、37 /5% CO₂下の培養により維持した。

【0290】

CD14⁺ およびCD56⁺細胞の枯渇

CD14⁺細胞を枯渇させるために、ヒトCD14マイクロビーズ（Miltenyi Biotec、MACS、#130-050-201）を使用し、NK細胞を枯渇させるために、ヒトCD56マイクロビーズ（MACS、#130-050-401）を使用した。PBMCをカウントし、室温で10分間、300 × gで遠心分離した。上清を廃棄し、細胞ペレットをMACS単離緩衝液 [80 μL/10⁷ 細胞 ; PBS (Invitrogen、#20012-043) 、 0.5% (v/v) FBS (Gibco、#10270-106) 、 2mM EDTA (Sigma-Aldrich、#E-6511)] に再懸濁した。CD14マイクロビーズおよびCD56マイクロビーズ（20 μL/10⁷ 細胞）を添加し、4~8 で15分間インキュベートした。細胞をMACS単離緩衝液（1~2mL/10⁷ 細胞）で洗浄した。遠心分離後（上記を参照のこと）、上清を廃棄し、細胞をMACS単離緩衝液（50 0 μL/10⁸ 細胞）に再懸濁した。次に、CD14/CD56陰性細胞を、LSカラム（Miltenyi Biotec、#130-042-401）を用いて単離した。CD14+/CD56+細胞を含まないPBMCを、必要となるまで、37 のインキュベーターにおいて、RPMI完全培地、すなわち10% FBS（Biochrom AG、#S0115）、1 × 非必須アミノ酸（Biochrom AG、#K0293）、10mM Hepes緩衝液（Biochrom AG、#L1613）、1mMピルビン酸ナトリウム（Biochrom AG、#L0473）および100 U/mLペニシリン／ストレプトマイシン（Biochrom AG、#A2213）を補充したRPMI1640（Biochrom AG、#FG1215）中で培養した。

【0291】

標的細胞の標識

フローサイトメトリー アッセイにおける細胞溶解の分析のために、蛍光膜色素DiOC₁₈（DiO）（Molecular Probes、#V22886）を使用して、標的細胞としてのヒトBCMAまたはマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞を標識し（ヒト/マカクBCMA陽性標的細胞）、それらをエフェクター細胞から区別できるようにした。簡潔に説明すると、細胞を収集し、PBSで1回洗浄し、そして2% (v/v) FBSおよび膜色素DiO（5 μL/10⁶ 細胞）を含むPBSで10⁶ 細胞/mLに調節した。37 で3分間のインキュベートの後、細胞を完全RPMI培地で2回洗浄し、そして細胞数を1.25 × 10⁵ 細胞/mLに調節した。細胞の生存性を、0.5% (v/v) 等張性EosinG溶液（Roth、#45380）を用いて決定した。

【0292】

フローサイトメトリー ベースの分析

このアッセイは、BCMA/CD3二重特異性抗体の連続希釈物の存在下でのマカクまたはヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞（またはBCMA陽性標的細胞）の溶解を定量するよう設計した。等量のDiO標識標的細胞およびエフェクター細胞（すなわち、CD14⁺細胞を含まないPBMC）を混合し、E:T細胞比を10:1にした。この懸濁物160 μLを96ウェルプレートの各ウェルに移した。40 μLの、BCMA/CD3二重特異性抗体の連続希釈物および陰性対照二重特異性抗体（無関係の標的抗原を認識するCD3ベースの二重特異性抗体）または追加の陰性対照としてのRPMI完全培地を添加した。BCMA/CD3二重特異性抗体によって媒介される細胞毒性反応は、7% CO₂加湿インキュベーター内で48時間進行させた。次いで、細胞を新しい96ウェルプレートに移し、標的細胞の膜完全性の喪失を、最終濃度1 μg/mLのヨウ化プロピジウム（PI）の添加によってモニタリングした。PIは、通常生きた細胞から排除される膜不透過性の色素であるが、死滅した細胞はそれを取り込み、蛍光放射によって同定可能になる。試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソ

10

20

30

40

50

ソフトウェアによって分析した（両方ともBecton Dickinson製）。標的細胞を、DiO陽性細胞として同定した。PI陰性標的細胞を、生きている標的細胞に分類した。細胞毒性の百分率は、次式にしたがって計算した。

$$\text{細胞毒性 [%]} = \frac{n(\text{死滅した標的細胞}) \times 100}{n(\text{標的細胞})}$$

n = 事象数

GraphPad Prism 5ソフトウェア (Graph Pad Software, San Diego) を使用して、細胞毒性の百分率を、対応する二重特異性抗体の濃度に対してプロットした。用量応答曲線は、一定のヒル勾配のシグモイド用量応答曲線の評価のための4パラメータロジスティック回帰モデルを用いて分析し、EC50値を計算した。

【0293】

10

8.4 ヒトBCMAトランスフェクト標的細胞に対する未刺激のヒトPBMC

BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞としてヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞を、およびエフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて分析した。このアッセイを上記のように行なった（実施例A8.3）。

【0294】

20

エフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを、および標的としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞を用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイの結果が図A10および表6に示されている。

【0295】

20

（表6）エフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを、および標的細胞としてヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|------------------|--------------|------|
| BCMA-30 | 314 | 0.98 |
| BCMA-50 | 264 | 0.97 |

【0296】

30

実施例A9

9.1 BAFF受容体との交差反応の排除

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 μg/mlの濃度の精製された二重特異性抗体50 μlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞を、2% FCSを含むPBSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体 (Qiagen ; 2% FCSを含む50 μlのPBSで1:20希釈) で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、2% FCSを含むPBSで1:100希釈された、フィコエリトリリンにコンジュゲートされたFc 特異的抗体 (Dianova) で検出した。試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した（両方ともBecton Dickinson製）。

二重特異性結合体は、BAFF受容体と交差反応性でないことを示した。

【0297】

40

9.2 ヒトBAFF受容体 (BAFF-R) およびTACIと交差反応するBCMA/CD3二重特異性抗体の排除

ヒトBAFF-RおよびTACIへの結合の排除のために、BCMA/CD3二重特異性抗体を、ヒトBAFF-RおよびTACIのそれぞれでトランスフェクトされたCHO細胞を用いたフローサイトメトリーによって試験した。さらに、L363多発性骨髄腫細胞を、ヒトBCMAへの結合の陽性対照として使用した。CHO細胞におけるBAFF-RおよびTACI抗原の発現を、2つの陽性対照抗体によって確認した。フローサイトメトリーは、上記実施例に記載されたようにして行った。

【0298】

フローサイトメトリー分析により、エピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体のいずれもがヒトBAFF-RまたはヒトTACIと交差反応しないことが確認された（図

50

A11を参照のこと)。

【0299】

実施例A10

細胞毒性活性

エフェクターT細胞をBCMA発現標的細胞に対してリダイレクトするヒト様BCMA二重特異性抗体の効力を、5つの追加のインビトロ細胞毒性アッセイにおいて分析する：

1. 刺激されたヒトエフェクターT細胞をBCMA陽性(ヒト)腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、51クロム放出アッセイにおいて測定する。
2. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。10
3. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をBCMA陽性(ヒト)腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
4. 交差反応性のBCMA二重特異性抗体がマカクT細胞をマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトできることを確認するため、エフェクターT細胞としてマカクT細胞株を用いてFACSベースの細胞毒性アッセイを行う。
5. 単量体形態および2量体形態のBCMA二重特異性抗体の間の効力ギャップを、標的細胞としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞を、およびエフェクター細胞として刺激されたヒトT細胞を用いる、51クロム放出アッセイにおいて決定する。

【0300】

実施例A11

BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363に対する刺激されたヒトT細胞

BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞源としてBCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363(DSMZ No. ACC49)を、およびエフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞を用いた、51クロム(⁵¹Cr)放出細胞毒性アッセイにおいて分析した。アッセイは、実施例A8.1に記載されるようにして行った。

【0301】

エフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 Tリンパ球および標的としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞を用いた51クロム放出アッセイの結果によれば、エピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体は、細胞毒性活性が強力である(図A12および表7)。30

【0302】

しかし予想外なことに、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3二重特異性抗体は、ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対する細胞毒性活性に関しては強力であったが、細胞表面上にネイティブBCMAを低密度で発現するヒト多発性骨髄腫細胞株L363に対してはずっと弱い細胞毒性を示した(図A12および表7)。学説による制約を望まないが、本発明者らは、ヒトBCMAのE1/E4エピトープは、BCMAトランスフェクト細胞よりもBCMA自然発現体においてアクセス性が良くないのではないかと考えている。

【0303】

(表7)標的細胞源としてBCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363を、およびエフェクタ－細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞を用いた、18時間51クロム(⁵¹Cr)放出細胞毒性アッセイにおいて分析されたエピトープクラスターE1/E4(第1列および第2列)ならびにE3/E4±E7(第3および4列)のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値[pg/ml]40

| | BCMA/CD3二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|---|------------------------|---------------------|-------------|
| 1 | BCMA-54 | 685 | 0.84 |
| 2 | BCMA-53 | 1107 | 0.82 |
| 3 | BCMA-30 | 182 | 0.83 |
| 4 | BCMA-50 | 148 | 0.83 |

【0304】

10

20

30

40

50

実施例A12

BCMA陽性ヒト多発性骨髓腫細胞株L363に対する未刺激のヒトPBMC

BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞源として、すべての試験した標的T細胞株の中で最も弱いネイティブBCMAの表面発現を示した、BCMA陽性ヒト多発性骨髓腫細胞株L363 (DSMZ、ACC49)を、およびエフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいてさらに分析した。アッセイは、上記（実施例A8.3）のように行った。

【0305】

刺激され濃縮されたヒトCD8 Tリンパ球をヒト多発性骨髓腫細胞株L363に対して用いた5
1クロム放出アッセイにおいて観察されたように、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3 10
二重特異性抗体は、ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対するそれらの強力な
細胞毒性活性とは対照的に、ここでも、細胞表面上にネイティブBCMAを低密度で発現する
ヒト多発性骨髓腫細胞株L363への未刺激のPBMCの細胞毒性活性のリダイレクトに関して弱
い効力を示した。これは、上記の学説、すなわち、ヒトBCMAのE1/E4エピトープはBCMAト
ランスクレクト細胞よりもBCMA自然発現体においてアクセス性が良くないと考えられること、と符合する。エピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体は、このア
ッセイにおいて3桁台のpg/mlのEC50値を示した（図A13および表8を参照のこと）。

【0306】

（表8）エフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを、および標的細胞源としてヒト多
発性骨髓腫細胞株L363を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定された
エピトープクラスターE1/E4（第1列および第2列）ならびにE3/E4±E7（第3および4列）の
BCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml] 20

| | BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|---|-------------------------|---------------------|-------------|
| 1 | BCMA-54 | 3162 | 0.99 |
| 2 | BCMA-53 | 2284 | 0.98 |
| 3 | BCMA-30 | 589 | 0.99 |
| 4 | BCMA-50 | 305 | 0.99 |

【0307】

30

予想通り、EC50値は、エフェクター細胞として未刺激のPBMCを用いた細胞毒性アッセイ
において、濃縮され刺激されたヒトCD8 T細胞を用いた細胞毒性アッセイにおけるよりも
高くなった。

【0308】

実施例A13

BCMA陽性ヒト多発性骨髓腫細胞株NCI-H929に対する未刺激のヒトPBMC

BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞源としてBCMA陽性ヒト多発性骨髓
腫細胞株NCI-H929 (ATCC CRL-9068)を、およびエフェクター細胞として未刺激のヒトPB
Mを用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて分析した。アッセイは、上記（実施
例A8.3）のように行った。

40

【0309】

この、細胞表面上にネイティブBCMAを発現する別のヒト多発性骨髓腫細胞株（すなわち
、NCI-H929）を用いたアッセイの結果は、ヒト多発性骨髓腫細胞株L363を用いて得られた
結果を確認するものである。ここでも、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3二重特異
性抗体は、ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対するそれらの強力な細胞毒性
活性とは対照的に、ヒト多発性骨髓腫細胞への未刺激のPBMCの細胞毒性活性のリダイレク
トに関して低い効力を示し、ヒトBCMAのE1/E4エピトープはBCMAトランスクレクト細胞よ
りもBCMA自然発現体においてアクセス性が良くないとのではないかという学説が確認され
た。E1/E4結合体で見られたような、BCMAトランスクレクト標的細胞と自然発現体の間の
そのような活性のギャップは、E3/E4±E7結合体では見られなかった。エピトープクラス 50

ターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体は、2桁台のpg/mlのEC50値を示し、したがってNCI-H929標的細胞に対して未刺激のPBMCを驚くべき良いEC50値でリダイレクトした（図A14および表9を参照のこと）。

【0310】

（表9）エフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを、および標的細胞源としてヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE1/E4（第1列および第2列）ならびにE3/E4 ± E7（第3および4列）のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

| | BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|---|-------------------------|---------------------|-------------|
| 1 | BCMA-54 | 2604 | 0.99 |
| 2 | BCMA-53 | 2474 | 0.99 |
| 3 | BCMA-30 | 38.0 | 0.95 |
| 4 | BCMA-50 | 40.4 | 0.97 |

【0311】

予想通り、EC50値は、L363と比較して、細胞表面上に高レベルのBCMAを発現するヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929において高くなった。

【0312】

実施例A14

マカクBCMA発現標的細胞に対するマカクT細胞

最後に、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞としてマカクBCMAでトランسفェクトされたCHO細胞を、およびエフェクター細胞源としてマカクT細胞株を用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて分析した。

【0313】

マカクT細胞株4119LnPx (Knappe et al. Blood 95: 3256-61 (2000)) を、エフェクタ－細胞源として使用した。マカクBCMAトランسفェクトCHO細胞の標的細胞標識および細胞毒性活性のフローサイトメトリーベースの分析を、上記のように行った。

【0314】

細胞株4119LnPx由来のマカクT細胞は、エピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体により、マカクBCMAトランسفェクトCHO細胞を効果的に死滅させるよう誘導された。この抗体は、このアッセイにおいて、1桁台のpg/mlのEC50値の非常に強い効力を示し、これらの抗体がマカク系内で非常に高い活性であることが確認された。他方、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3二重特異性抗体は、2桁台～3桁台のpg/ml範囲のEC50値の有意に弱い効力を示した（図A15および表10を参照のこと）。したがってE3/E4 ± E7特異的抗体は、マカク系において、効力が約20倍～100倍超高い。

【0315】

（表10）エフェクター細胞としてマカクT細胞株4119LnPxを、および標的細胞としてマカクBCMAでトランسفェクトされたCHO細胞を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE1/E4（第1列および第2列）ならびにE3/E4 ± E7（第3および4列）のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

| | BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|---|-------------------------|---------------------|-------------|
| 1 | BCMA-54 | 78.5 | 0.98 |
| 2 | BCMA-53 | 183 | 0.96 |
| 3 | BCMA-30 | 1.7 | 0.97 |
| 4 | BCMA-50 | 3.7 | 0.96 |

【0316】

実施例A15

10

20

30

40

50

BCMA/CD3二重特異性抗体の単量体と2量体の間の効力ギャップ

個々のBCMA/CD3二重特異性抗体の単量体と2量体のアイソフォーム間の細胞毒性活性の差（これを効力ギャップと称する）を決定するために、上記（実施例A8.1）のような51クロム放出細胞毒性アッセイを、精製されたBCMA/CD3二重特異性抗体の単量体および2量体を用いて行った。効力ギャップは、二重特異性抗体の単量体と2量体のEC50値の間の比として計算した。試験したエピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の効力ギャップは、0.2~1.2の間であった。したがって2量体がそのそれぞれの単量体と比較して有意に高い活性であるということはない。

【0317】

実施例A16

10

3回の凍結／解凍サイクル後の単量体から2量体への変換

二重特異性BCMA/CD3抗体の単量体を3回の凍結／解凍サイクルに供し、その後に高速SECを行って、抗体の2量体に変換された当初単量体であった抗体の百分率を決定した。

【0318】

15 μgの単量体抗体を一般緩衝液で250 μg/mlの濃度に調節し、次いで-80°で30分間凍結し、その後に室温で30分間解凍した。3回の凍結／解凍サイクルの後、2量体含有量をHP-SECによって決定した。この目的で、抗体の単量体アイソフォームの15 μgのアリコートを解凍し、初期SEC緩衝液（10mMクエン酸 - 75mMリジンHCl - 4%トレハロース - pH7.2）中250 μg/mlの濃度にし、その後に37°で7日間インキュベートした。高分解能SECカラム TSK Gel G3000 SWXL (Tosoh, Tokyo-Japan) を、A905オートサンプラーを搭載したAkt a Purifier 10 FPLC (GE Lifesciences) に接続した。カラム平衡化・泳動緩衝液は、pH6.6に調節した100mM KH₂PO₄ - 200mM Na₂SO₄からなるものであった。7日間のインキュベートの後、抗体溶液（15 μgタンパク質）を平衡化したカラムに適用し、流速0.75ml/分、最大圧7MPaで溶出を行った。泳動全体を280、254および210nmの光吸収によりモニタリングした。分析は、Akta Unicornソフトウェアの泳動評価シートに記録された210nmシグナルのピーク積分によって行った。2量体含有量は、2量体ピークの面積を単量体と2量体ピークの総面積で割り算することによって計算した。

20

【0319】

エピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体は、3回の凍結／解凍サイクルの後に0.8~1.5%の2量体率を示し、これは良好であるとみなされる。しかし、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3二重特異性抗体の2量体変換率は、好ましくないほど高い値に達し、不都合な2量体値の閾値である 2.5%を超過した（それぞれ、4.7%および3.8%）。表11を参照のこと。

30

【0320】

（表11）高速サイズ排除クロマトグラフィー（HP-SEC）によって決定された、3回の凍結／解凍サイクル後のエピトープクラスターE1/E4（第1列および第2列）ならびにE3/E4±E7（第3および4列）のBCMA/CD3二重特異性抗体の単量体 対 2量体の百分率

| | BCMA/CD3二重特異性抗体 | 単量体 [%] | 2量体 [%] |
|---|------------------------|----------------|----------------|
| 1 | BCMA-54 | 95.3 | 4.7 |
| 2 | BCMA-53 | 96.2 | 3.8 |
| 3 | BCMA-30 | 98.5 | 1.5 |
| 4 | BCMA-50 | 99.2 | 0.8 |

40

【0321】

実施例A17

熱安定性

BCMA/CD3二重特異性抗体に固有の生物物理学的タンパク質安定性を決定するため、融解温度曲線を示差走査熱量測定（DSC）により決定した。これらの実験は、MicroCal LLC (Northampton, MA, U.S.A) VP-DSCデバイスを用いて行った。BCMA/CD3二重特異性抗体を含

50

む試料のエネルギー取り込みを、抗体の処方緩衝液のみを含む試料との比較で、20 から 90 まで記録した。

【0322】

詳述すると、BCMA/CD3二重特異性抗体を、保存緩衝液で終濃度250 μg/mlに調節した。調製したタンパク質溶液300 μlを深底ウェルプレートに移し、DSCデバイスの冷却オートサンプラー位置に設置した。追加のウェルを、測定参照物質としてのSEC泳動緩衝液で満たした。測定プロセスにおいて、タンパク質溶液は、オートサンプラーによってキャピラリーに移された。追加のキャピラリーを、参照としてのSEC泳動緩衝液で満たした。すべての試料について、加熱および両方のキャピラリーを20～90 の範囲の等しい温度に過熱するのに必要とされる熱エネルギーの記録を行った。

10

【0323】

それぞれの融解曲線の記録のために、試料の全体温度を段階的に上昇させた。各温度Tで、試料および処方緩衝液参照のエネルギー取り込みを記録した。試料から参照を差し引いたエネルギー取り込みCp (kcal/mole/°C)の差を、それぞれの温度に対してプロットした。融解温度は、エネルギー取り込みが最初に最大となる温度と定義される。

【0324】

すべての試験されたエピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体は、60 を超える、より正確には62 ~ 63 の間の融解温度の良好な熱安定性を示した。

【0325】

実施例A18

20

フローサイトメトリーによる血漿の干渉の排除

BCMA/CD3二重特異性抗体とヒト血漿タンパク質の潜在的な相互作用を決定するため、血漿干渉試験を構築した。この目的で、10 μg/mlのそれぞれのBCMA/CD3二重特異性抗体を、37 °Cで1時間、90%ヒト血漿中でインキュベートした。その後に、ヒトBCMA発現CHO細胞に対する結合をフローサイトメトリーによって決定した。

【0326】

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 μg/mlの濃度の精製された抗体50 μlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞をPBS/2% FCSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体 (Qiagen; 50 μlのPBS/2% FCSで1:20希釈) で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、PBS/2% FCSで1:100希釈された、フィコエリトリリンにコンジュゲートされたFc 特異的抗体 (Dianova) で検出した。試料をFACSCanto I 機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した（両方ともBecton Dickinson製）。

30

【0327】

得られたデータを、ヒト血漿の代わりにPBSを用いた対照アッセイと比較した。相対結合を、以下のように計算した：

(PBS試料のシグナル / 検出試薬なしのシグナル) / (血漿試料のシグナル / 検出試薬なしのシグナル)。

【0328】

この実験では、血漿タンパク質によって媒介されるエピトープクラスターE3/E4 ± E7のそれぞれのBCMA/CD3二重特異性抗体の標的結合の有意な減少が起こらないことが明らかになった。相対血漿干渉値は、1.28 ± 0.38 ~ 1.29 ± 0.31の間であった（値「2」を干渉シグナルの下側閾値とみなした）。

40

【0329】

実施例A19

ヒト腫瘍異種移植モデルにおけるBCMA/CD3二重特異性抗体の治療効能

研究第1日目に、 5×10^6 細胞のヒト癌細胞株NCI-H929を、メスNOD/SCIDマウスの右背側面に皮下注射した。

【0330】

平均腫瘍容積が約100mm³に達した第9日目に、インビトロで展開させたヒトCD3⁺ T細胞

50

を、この動物の腹腔への約 2×10^7 細胞の注射によりマウスに移植した。ビヒクル対照グループ1 (n=5) のマウスにはエフェクター細胞を与えず、腫瘍成長に対するT細胞単独の影響をモニタリングするためのビヒクル対照グループ2 (n=10、エフェクター細胞を与えた)と共に比較のための未移植対照として使用した。

【0331】

抗体処置は、平均腫瘍容積が約200mm³に達した第13日目に開始した。処置開始日における各処置グループの平均腫瘍サイズは、任意の他のグループと統計的に相違しなかった(分散分析)。マウスを、0.5 mg/kg/日のBCMA/CD3二重特異性抗体BCMA-50 × CD3 (グループ3、n=8)を用いて、17日間の静脈内ボーラス注射により処置した。

【0332】

研究中、腫瘍はカリパスによって測定し、進行は腫瘍容積 (TV) のグループ間比較によって評価した。腫瘍成長阻害T/C [%]は、T/C% = 100 × (分析グループのTV中央値)/(対照グループ2のTV中央値)としてTVを計算することによって決定した。結果が表12および図A16に示されている。

【0333】

(表12) 第13~30日目の腫瘍容積 (TV) の中央値および腫瘍成長阻害 (T/C)

| 投薬量 グループ | データ | d13 | d14 | d15 | d16 | d18 | d19 | d21 | d23 | d26 | d28 | d30 |
|--|-----------------------------|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 T細胞を 含まない ビヒクル 対照 | TV中央値 [mm ³] | 238 | 288 | 395 | 425 | 543 | 632 | 863 | 1067 | 1116 | 1396 | 2023 |
| | T/C [%] | 120 | 123 | 127 | 118 | 104 | 114 | 122 | 113 | 87 | 85 | 110 |
| 2 ビヒクル 対照 | TV中央値 [mm ³] | 198 | 235 | 310 | 361 | 525 | 553 | 706 | 942 | 1290 | 1636 | 1839 |
| | T/C [%] | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 3 BCMA- 50 | TV中央値 [mm ³] | 215 | 260 | 306 | 309 | 192 | 131 | 64.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | T/C [%] | 108 | 111 | 98.6 | 85.7 | 36.5 | 23.7 | 9.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

【0334】

実施例A20

標的陰性細胞の溶解の排除

インビトロ溶解アッセイを、エフェクター 対 標的細胞比5:1のBCMA陽性ヒト多発性骨髓腫細胞株NCI-H929および精製されたT細胞を用いて、24時間のインキュベート時間で行った。エピトープクラスターE3/E4 ± E7のBCMA/CD3二重特異性抗体 (BCMA-50) は、NCI-H929の溶解に関して高い効力および效能を示した。しかし、BCMA陰性細胞株HL60 (AML / 骨髓芽球形態)、MES-SA (子宮肉腫、線維芽細胞形態) およびSNU-16 (胃癌、上皮形態) では、最大500nMの抗体で溶解が検出されなかった。

【0335】

実施例A21

異なるPBMCサブセットのT細胞活性化の誘導

FACSベースの細胞毒性アッセイ (48h; E:T = 10:1) を、標的細胞としてヒト多発性骨髓腫細胞株NCI-H929、L-363およびOPM-2を、およびエフェクター細胞としてヒトPBMCの異なるサブセット (CD4⁺/CD8⁺/CD25⁺/CD69⁺) を用いて行った。結果 (表13を参照のこと) は、EC₅₀値によって測定された活性化の程度が、分析された異なるPBMCサブセットで本質的に同じ範囲内であることを示している。

【0336】

10

20

30

40

50

(表13) エフェクター細胞としてヒトPBMCの異なるサブセットを、および標的細胞として異なるヒト多発性骨髄腫細胞株を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体BCMA-50のEC50値 [ng/ml]

| 細胞株 | PBMC | EC ₅₀ [ng/ml] |
|----------|--------------------------------------|--------------------------|
| | | BCMA-50 x CD3 |
| NCI-H929 | CD4 ⁺ / CD25 ⁺ | 0.88 |
| | CD8 ⁺ / CD25 ⁺ | 0.38 |
| | CD4 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.41 |
| | CD8 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.15 |
| OPM-2 | CD4 ⁺ / CD25 ⁺ | 5.06 |
| | CD8 ⁺ / CD25 ⁺ | 1.51 |
| | CD4 ⁺ / CD69 ⁺ | 3.52 |
| | CD8 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.68 |
| L-363 | CD4 ⁺ / CD25 ⁺ | 0.72 |
| | CD8 ⁺ / CD25 ⁺ | 0.38 |
| | CD4 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.53 |
| | CD8 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.12 |

【0337】

実施例A22

サイトカイン放出の誘導

FACSベースの細胞毒性アッセイ(48h; E:T = 10:1)を、標的細胞としてヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929、L-363およびOPM-2を、ならびにエフェクター細胞としてヒトPBMCを用いて行った。サイトカイン放出のレベル[pg/ml]を、漸増濃度のエピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体の下で決定した。以下のサイトカインを分析した：IL-2、IL-6、IL-10、TNFおよびIFN- γ 。結果が表14および図A17に示されている。

【0338】

(表14) エフェクター細胞としてヒトPBMCを、および標的細胞として異なるヒト多発性骨髄腫細胞株を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイ(E:T = 10:1)において2.5 μg/mlのエピトープクラスターE3/E4±E7のBCMA/CD3二重特異性抗体(BCMA-50)によって誘導されたIL-2、IL-6、IL-10、TNFおよびIFN- γ の放出[pg/ml]

| 細胞株 | サイトカインレベル[pg/ml] | | | | |
|----------|------------------|------|-------|------|---------------|
| | IL-2 | IL-6 | IL-10 | TNF | IFN- γ |
| NCI-H929 | 1865 | 664 | 3439 | 9878 | 79372 |
| OPM-2 | 23 | 99 | 942 | 6276 | 23568 |
| L-363 | 336 | 406 | 3328 | 4867 | 69687 |

【0339】

実施例A23

最大135 μg/kg/日の用量でのカニクイザルにおけるBCMA-30の7日間連続i.v.注入による用

10

20

30

40

50

量範囲発見研究

カニクイザルを、7日間の0、5、15、45および $135\text{ }\mu\text{g/kg}$ /日の用量レベルでの連続静脈内注入を通じて処置した。試験グループあたり3匹の動物を試験した($5\text{ }\mu\text{g/kg}$ /日における2匹を除く)。BCMA-30は十分許容され、ほとんど臨床症状を示さなかった(45および $13\text{ }\mu\text{g/kg}$ /日における第1日の嘔吐を除く)。BiTE SCバイオアベイラビリティは、40~60%であった。

【0340】

将来のIHCのために急速凍結させた一部の組織(小腸、脾臓、下顎LN、扁桃腺およびBM)を除いて標準的なMITI-DRFデザインを実施した。

【0341】

図A18は、BCMA-30のCIV投与に起因するリンパ球(CD3+)循環レベルの一過的減少を示している。最大 $135\text{ }\mu\text{g/kg}$ /日の用量でのカニクイザルにおけるBCMA-30の7日間連続注入の図A19に示されるトキシコキネティクスデータは、用量依存的な安定的な血中濃度を示している。

【0342】

単球走化タンパク質1の放出を決定した。結果が図A20に示されている。

【0343】

以下のサイトカインを分析した: IL-2、IL-6。結果が図A21およびA22に示されている。

【0344】

実施例B

実施例B1

キメラBCMAを発現するCHO細胞の生成

キメラエピトープマッピング分子の構築のために、ヒトBCMAの各エピトープドメインのアミノ酸配列または単一のアミノ酸残基をマウス配列に変換した。以下の分子を構築した。

【0345】

- ・ヒトBCMA ECD/E1マウス(SEQ ID NO: 1009)

キメラ細胞外BCMAドメイン:エピトープクラスター1(SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基1~7)が各々のマウスクラスター(SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基1~4)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基1~3の欠失およびG6Qの変異

【0346】

- ・ヒトBCMA ECD/E2マウス(SEQ ID NO: 1010)

キメラ細胞外BCMAドメイン:エピトープクラスター2(SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基8~21)が各々のマウスクラスター(SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基5~18)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるS9F、Q10HおよびN11Sの変異

【0347】

- ・ヒトBCMA ECD/E3マウス(SEQ ID NO: 1011)

キメラ細胞外BCMAドメイン:エピトープクラスター3(SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基24~41)が各々のマウスクラスター(SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基21~36)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基31および32の欠失ならびにQ25H、S30N、L35AおよびR39Pの変異

【0348】

- ・ヒトBCMA ECD/E4マウス(SEQ ID NO: 1012)

キメラ細胞外BCMAドメイン:エピトープクラスター4(SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基42~54)が各々のマウスクラスター(SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基37~49)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるN42D、A43P、N47S、N53YおよびA54Tの変異

10

20

30

40

50

【0349】

- ヒトBCMA ECD/E5マウス (SEQ ID NO: 1013)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の22位のアミノ酸残基（イソロイシン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（リジン、19位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるI22Kの変異

【0350】

- ヒトBCMA ECD/E6マウス (SEQ ID NO: 1014)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の25位のアミノ酸残基（グルタミン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（ヒスチジン、22位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるQ25Hの変異

【0351】

- ヒトBCMA ECD/E7マウス (SEQ ID NO: 1015)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の39位のアミノ酸残基（アルギニン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（プロリン、34位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるR39Pの変異。

【0352】

cDNA構築物を哺乳動物発現ベクターpEF-DHFRにクローニングし、CHO細胞に安定的にトランスクレクトした。CHO細胞におけるヒトBCMAの発現を、モノクローナル抗ヒトBCMA抗体を用いるFACSアッセイにおいて検証した。マウスBCMAの発現は、モノクローナル抗マウスBCMA抗体を用いて実証した。使用したBCMA抗体の濃度は、PBS/2%FCS中10 μg/mlであった。結合したモノクローナル抗体を、抗ラットIgG-Fcγ-PE (PBS/2%FCS中1:100 ; Jackson-Immuno-Research # 112-116-071) を用いて検出した。陰性対照として、細胞を、第1の抗体に代えてPBS/2%FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器 (Becton Dickinson) におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア (バージョン7.6) によって分析した。ヒト・マウスBCMAキメラの表面発現に関して、トランスクレクトされたCHO細胞を、様々な抗BCMA抗体を用いたフローサイトメトリーアッセイにおいて分析および確認した (図2) 。

20

【0353】

実施例B2

2.1 HEK293細胞における一過的発現

配列検証済みのスクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、製造元のプロトコルにしたがうFreeStyle 293発現システム (Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Germany) におけるトランスクレクションおよびタンパク質発現のために使用した。発現されたタンパク質を含む上清を取得し、細胞を遠心分離により除去し、そして上清を-20 °Cで保存した。

【0354】

2.2 CHO細胞における安定的発現

40

配列検証済みのスクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、該構築物の真核生物発現のために、DHFR欠損CHO細胞にトランスクレクトした。DHFR欠損CHO細胞における真核生物タンパク質発現は、Kaufman R.J. (1990) Methods Enzymol. 185, 537-566に記載されているようにして行った。構築物の遺伝子増幅を、メトトレキサート (MTX) の濃度を20 nM MTXの最終濃度になるまで増加させることによって誘導した。静置培養で2回継代した後、細胞を、収集前の7日間、スクレオシドフリーHyQ PF CHO液体ダイズ培地 (4.0 mM L-グルタミンを含み、0.1% Pluronic F-68を含む; HyClone) を含むローラーボトル中で成長させた。細胞を遠心分離によって除去し、発現されたタンパク質を含む上清を-20 °Cで保存した。

【0355】

50

実施例B3

マウスscFvフラグメントのエピトープクラスタリング

ヒトもしくはマウスBCMAまたはキメラBCMA分子でトランスフェクトされた細胞を、ヒト/マカクBCMAに結合するscFvを含む粗精製未希釈ペリプラズム抽出物で染色した。結合したscFvを、1 μg/mlの抗FLAG抗体（Sigma F1804）およびR-PE標識抗マウスFc特異的抗体（1:100; Dianova #115-116-071）で検出した。すべての抗体を、2% FCSを含むPBSで希釈した。陰性対照として、細胞を、ペリプラズム抽出物の代わりにPBS/2% FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器（Becton Dickinson）におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア（バージョン7.6）によって分析した。

【0356】

10

実施例B4

可溶性ヒトおよびマカクBCMAの異なる組み換え形態の入手

ヒトおよびアカゲザルBCMAのコード配列（GenBankにおいて公開、アクセション番号N M_001192[ヒト]、XM_001106892[アカゲザル]）、ヒトアルブミン、ヒトFc 1およびマウスアルブミンのコード配列を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれならびにヒトアルブミン、ヒトIgG1 Fcおよびマウスアルブミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質ならびにBCMAの細胞外ドメインのみを含む可溶性タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性ヒトおよびマカクBCMAタンパク質の発現のための構築物を生成するために、cDNAフラグメントを、標準的プロトコルにしたがう上記の全長BCMA cDNAのPCR変異誘発および分子クローニングによって取得した。

ヒトアルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびアカゲザルBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒト血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスIgG1との融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒトIgG1のヒンジおよびFc部分のコード配列、その後にインフレームでヘキサヒスチジンタグのコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスアルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでマウス血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

可溶性細胞外ドメイン構築物については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly1リンカーのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

cDNAフラグメントをまた、フラグメントの最初および最後に制限部位を導入するよう設

20

30

40

50

計した。導入された制限部位である5'末端のEcoRIおよび3'末端のSalIを、以下のクローニング手順で使用した。cDNAフラグメントを、EcoRIおよびSalIを通じてpEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした(pEF-DHFRは、Raum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001) 141-150に記載されている)。上記の手順はすべて、標準的なプロトコル(Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York (2001))にしたがい行った。

【0357】

実施例B5

ヒトおよびマカクBCMAおよびCD3に対する二重特異性抗体の親和性のBiacoreベースの決定

BCMAに対する標的結合を決定するため、ヒト血清アルブミン(ALB)を含む組み換えBCMA融合タンパク質を用いてBiacore分析実験を行った。CD3に対する親和性の測定のために、ヒト抗体Fc部分に融合されたCD3イプシロン(CD3e)のN末端27アミノ酸を有する組み換え融合タンパク質を使用した。この組み換えタンパク質は、ヒトCD3e 1-27バージョンおよびカニクイザルCD3eバージョンがあり、どちらも二重特異性抗体中のCD3結合体のエピトープを保有している。

詳細を述べると、CM5センサーチップ(GE Healthcare)に、製造元のマニュアルにしたがい酢酸緩衝液pH4.5を用いておよそ100~150RUの各組み換え抗原を固定化した。二重特異性抗体試料を、HBS-EP泳動緩衝液(GE Healthcare)で希釈した5つの濃度: 50nM、25nM、12.5nM、6.25nMおよび3.13nMでロードした。流速は、30~35 μl/minで3分間であり、その後にHBS-EP泳動緩衝液を、再度30~35 μl/mlの流速で8分間適用した。チップの再生は、10mMグリシン 0.5M NaCl pH2.45を用いて行った。データセットを、BiaEvalソフトウェアを用いて分析した。通常、2回の独立した実験を行った。

【0358】

実施例B6

フローサイトメトリー分析

親和性成熟させたscFv分子の機能性および結合強度を、ヒトおよびマカクBCMAトランسفェクトCHO細胞を用いたFACSにおいて分析した。簡潔に説明すると、およそ 10^5 個の細胞を、大腸菌細胞ペリプラズム抽出物の1:3連続希釈物50 μlと共に、氷上で50分間インキュベートした。PBS/10%FCS/0.05%アジ化ナトリウムで洗浄した後、細胞を、30 μlのFlag-M2 IgG (Sigma, PBS/10%FCS/0.05%アジ化ナトリウム中1:900)と共に、氷上で40分間インキュベートした。2回目の洗浄の後、細胞を、30 μlのR-フィコエリトリン(PE)標識ヤギ抗マウスIgG (Jackson ImmunoResearch, PBS/10%FCS/0.05%アジ化ナトリウム中1:100)と共に、氷上で40分間インキュベートした。次に、細胞を再度洗浄し、200 μlのPBS/10%FCS/0.05%アジ化ナトリウムに再懸濁させた。染色された細胞の相対蛍光を、FACSCanto(商標)フローサイトメーター(BD)を用いて測定した。その結果が、蛍光強度の対数 対 相対細胞数をプロットしたFACSヒストグラムとして示されている(図B4を参照のこと)。

【0359】

実施例B7

二重特異性の結合および異種間交差反応性(interspecies cross-reactivity)

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 μg/mlの濃度の精製された二重特異性分子50 μlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞を2% FCS含有PBSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体(Qiagen; 50 μlの2% FCS含有PBSで1:20希釈)で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、2% FCS含有PBSで1:100希釈された、フィコエリトリンにコンジュゲートされたFc特異的抗体(Dianova)で検出した。

【0360】

実施例B8

ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性抗体の親和性のScatchardベースの決定

Scatchard分析では、各々の細胞株に対する二重特異性抗体の1価結合を正確に決定するため、Micrometが開発した1価検出システム(抗His Fab/Alexa 488)を用いて飽和結合実

10

20

30

40

50

験を行う。

それぞれの細胞株（ヒトBCMAを組換え発現するCHO細胞株、マカクBCMAを組換え発現するCHO細胞株） 2×10^4 細胞を、100nMから始まるそれぞれのBCMA二重特異性抗体の3連の希釈シリーズ（1:2の8段階希釈）各50 μlと共にインキュベートし、その後に攪拌しながら4

で16時間インキュベートし、1回の残留物の洗浄工程を行う。次に、細胞を30 μlの抗HIs Fab/Alexa488溶液（Micromet；30 μg/ml）と共にさらに30分間インキュベートする。1回の洗浄工程の後、細胞を、3.5%ホルムアルデヒドを含む150 μlのFACS緩衝液に再懸濁し、さらに15分間インキュベートし、遠心分離し、FACS緩衝液に再懸濁し、そしてFACS Can toll機およびFACS Divaソフトウェアを用いて分析する。データは、2回の独立した実験セットから得る。値を、双曲線の結合曲線としてプロットする。それぞれのScatchard分析から最大結合（Bmax）を推定する計算を行う。それぞれのKDを反映する最大半量結合時の二重特異性抗体の濃度を決定する。3連の測定の値を双曲線としてプロットする。最大結合を、Scatchard評価を用いて決定し、それぞれのKDを計算する。
10

【0361】

実施例B9

細胞毒性活性

9.1 刺激されたヒトT細胞を用いたクロム放出アッセイ

CD8⁺T細胞について濃縮され刺激されたT細胞を、以下のように得た。

ペトリ皿（直径145mm、Greiner bio-one GmbH, Kremsmunster）を、最終濃度1 μg/mlの市販の抗CD3特異的抗体（OKT3、Orthoclone）を用いて、37℃で1時間コーティングした。
20 未結合のタンパク質を、PBSを用いた1回の洗浄工程により除去した。安定化型グルタミン/10% FCS/IL-2 20 U/ml（Proleukin（登録商標）、Chiron）を含む120mlのRPMI 1640中3~5 × 10⁷個のヒトPBMCを、プレコートしたペトリ皿に添加し、2日間刺激した。3日目に、細胞を回収し、RPMI 1640で1回洗浄した。IL-2を最終濃度20 U/mlとなるよう添加し、そして細胞を再度、上記と同じ細胞培養培地中で1日培養した。

CD8⁺細胞毒性Tリンパ球（CTL）を、Dynal-Beadsを製造元のプロトコルにしたがい用いてCD4⁺T細胞およびCD56⁺NK細胞を枯渇させることにより、濃縮した。

マカクまたはヒトBCMAトランスフェクトCHO標的細胞をPBSで2回洗浄し、そして50% FC Sを含む最終容積100 μlのRPMI中11.1 MBqの⁵¹Crを用いて37℃で60分間標識した。その後、標識された標的細胞を5ml RPMIで3回洗浄し、その後これを細胞毒性アッセイに使用した。アッセイは、96ウェルプレートにおいて、総容積200 μlの補充されたRPMI中、10:1のE:T比で行った。出発濃度0.01~1 μg/mlの精製された二重特異性抗体およびその3倍希釈物を使用した。アッセイにおけるインキュベート時間は、18時間であった。細胞毒性は、最大溶解（Triton-Xの添加）と自然溶解（エフェクター細胞なし）の差に対する上清中に放出されたクロムの相対値として決定した。すべての測定を4連で行った。上清中のクロム活性の測定は、Wizard 3''カウンター（Perkin Elmer Life Sciences GmbH, Koln, Germany）において行った。結果の分析は、Windows版Prism 5（バージョン5.0、GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA）を用いて行った。分析プログラムによってシグモイド用量応答曲線から計算されたEC50値を、細胞毒性活性の比較に使用した。
30

【0362】

9.2 未刺激のヒトPBMCを用いたFACSベースの細胞毒性アッセイ

エフェクター細胞の単離

ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を、血液バンクが輸血のために回収した血液の副産物である濃縮リンパ球調製物（軟膜）からFicoll密度勾配遠心分離によって調製した。軟膜は、国内の血液バンクによって提供され、PBMCを、血液回収と同日に調製した。Ficoll密度遠心分離およびDulbecco's PBS（Gibco）による十分な洗浄の後、残った赤血球を、赤血球溶解緩衝液（155mM NH₄Cl、10mM KHCO₃、100 μM EDTA）とのインキュベーションを通じてPBMCから除去した。血小板は、PBMCの100 × gでの遠心分離により上清を通じて除去した。残ったリンパ球は、主としてBおよびTリンパ球、NK細胞および単球を含んでいる。PBMCを、10% FCS（Gibco）を含むRPMI培地（Gibco）中、37℃/5% CO₂下の培養により維持した
50

。

【0363】

CD14⁺およびCD56⁺細胞の枯渇

CD14⁺細胞を枯渇させるために、ヒトCD14マイクロビーズ（Miltenyi Biotec、MACS、#130-050-201）を使用し、NK細胞を枯渇させるために、ヒトCD56マイクロビーズ（MACS、#130-050-401）を使用した。PBMCをカウントし、室温で10分間、300 × gで遠心分離した。上清を廃棄し、細胞ペレットをMACS単離緩衝液 [80 μL/10⁷ 細胞 ; PBS (Invitrogen、#20012-043) 、 0.5% (v/v) FBS (Gibco、#10270-106) 、 2mM EDTA (Sigma-Aldrich、#E-6511)] に再懸濁した。CD14マイクロビーズおよびCD56マイクロビーズ (20 μL/10⁷ 細胞) を添加し、4~8 で15分間インキュベートした。細胞をMACS単離緩衝液 (1~2mL/10⁷ 細胞) で洗浄した。遠心分離後（上記を参照のこと）、上清を廃棄し、細胞をMACS単離緩衝液 (500 μL/10⁸ 細胞) に再懸濁した。次に、CD14/CD56陰性細胞を、LSカラム (Miltenyi Biotec、#130-042-401) を用いて単離した。CD14+/CD56+細胞を含まないPBMCを、必要となるまで、37 のインキュベーターにおいて、RPMI完全培地、すなわち10% FBS (Biochrom AG、#S0115) 、 1 x 非必須アミノ酸 (Biochrom AG、#K0293) 、 10mM Hepes緩衝液 (Biochrom AG、#L1613) 、 1mMピルビン酸ナトリウム (Biochrom AG、#L0473) および100 U/mLペニシリソウ / ストレプトマイシン (Biochrom AG、#A2213) を補充したRPMI1640 (Biochrom AG、#FG1215) 中で培養した。10

【0364】

標的細胞の標識

フローサイトメトリー アッセイにおける細胞溶解の分析のために、蛍光膜色素DiOC₁₈ (DiO) (Molecular Probes、#V22886) を使用して、標的細胞としてのヒトBCMAまたはマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞を標識し、それらをエフェクター細胞から区別できるようにした。簡潔に説明すると、細胞を収集し、PBSで1回洗浄し、そして2% (v/v) FBSおよび膜色素DiO (5 μL/10⁶ 細胞) を含むPBSで10⁶ 細胞/mLに調節した。37 で3分間のインキュベートの後、細胞を完全RPMI培地で2回洗浄し、そして細胞数を1.25 × 10⁵ 細胞/mLに調節した。細胞の生存性を、0.5% (v/v) 等張性EosinG溶液 (Roth、#45380) を用いて決定した。20

【0365】

フローサイトメトリー ベースの分析

このアッセイは、BCMA二重特異性抗体の連続希釈物の存在下でのマカクまたはヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞の溶解を定量するよう設計した。30

等量のDiO標識標的細胞およびエフェクター細胞（すなわち、CD14⁺細胞を含まないPBMC）を混合し、E:T細胞比を10:1にした。この懸濁物160 μLを96ウェルプレートの各ウェルに移した。40 μLの、BCMA二重特異性抗体の連続希釈物および陰性対照二重特異性（無関係の標的抗原を認識するCD3ベースの二重特異性抗体）または追加の陰性対照としてのRPMI完全培地を添加した。二重特異性抗体媒介細胞毒性反応は、7% CO₂加湿インキュベーター内で48時間進行させた。次いで、細胞を新しい96ウェルプレートに移し、標的細胞の膜完全性の喪失を、最終濃度1 μg/mLのヨウ化プロピジウム (PI) の添加によってモニタリングした。PIは、通常生きた細胞から排除される膜不透過性の色素であるが、死滅した細胞はそれを取り込み、蛍光放射によって同定可能になる。40

試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した（両方ともBecton Dickinson製）。

標的細胞を、DiO陽性細胞として同定した。PI陰性標的細胞を、生きている標的細胞に分類した。細胞毒性の百分率は、次式：

$$\text{細胞毒性 [%]} = \frac{n_{\text{死滅した標的細胞}}}{n_{\text{標的細胞}}} \times 100$$

n = 事象数

にしたがって計算した。50

【 0 3 6 6 】

GraphPad Prism 5ソフトウェア (Graph Pad Software, San Diego) を使用して、細胞毒性の百分率を、対応する二重特異性抗体の濃度に対してプロットした。用量応答曲線は、一定のヒル勾配のシグモイド用量応答曲線の評価のための4パラメータロジスティック回帰モデルを用いて分析し、EC50値を計算した。

【 0 3 6 7 】実施例B10

BAFF受容体との交差反応の排除

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 µg/mlの濃度の精製された二重特異性分子50 µlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞を、2% FCSを含むPBSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体 (Qiagen; 2% FCSを含む50 µlのPBSで1:20希釈) で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、2% FCSを含むPBSで1:100希釈された、フィコエリトリリンにコンジュゲートされたFc 特異的抗体 (Dianova) で検出した。試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACS Divaソフトウェアによって分析した (両方ともBecton Dickinson製)。二重特異性結合体は、BAFF受容体と交差反応性でないことを示した。

【 0 3 6 8 】実施例B11

細胞毒性活性

エフェクターT細胞をBCMA発現標的細胞に対してリダイレクトするヒト様BCMA二重特異性抗体の効力を、5つの追加のインピトロ細胞毒性アッセイにおいて分析する :

1. 刺激されたヒトエフェクターT細胞をBCMA陽性 (ヒト) 腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、51クロム放出アッセイにおいて測定する。
2. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
3. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をBCMA陽性 (ヒト) 腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
4. 交差反応性のBCMA二重特異性抗体がマカクT細胞をマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトできることを確認するため、エフェクターT細胞としてマカクT細胞株を用いてFACSベースの細胞毒性アッセイを行う。
5. 单量体形態および2量体形態のBCMA二重特異性抗体の間の効力ギャップを、標的細胞としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞およびエフェクター細胞として刺激されたヒトT細胞を用いる51クロム放出アッセイにおいて決定する。

【 0 3 6 9 】実施例C実施例C1

キメラBCMAを発現するCHO細胞の生成

キメラエピトープマッピング分子の構築のために、ヒトBCMAの各エピトープドメインのアミノ酸配列または単一のアミノ酸残基をマウス配列に変換した。以下の分子を構築した。

【 0 3 7 0 】

- ・ヒトBCMA ECD/E1マウス (SEQ ID NO: 1009)

キメラ細胞外BCMAドメイン : エピトープクラスター1 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基1~7) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基1~4) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基1~3の欠失およびG6Qの変異

【 0 3 7 1 】

- ・ヒトBCMA ECD/E2マウス (SEQ ID NO: 1010)

キメラ細胞外BCMAドメイン : エピトープクラスター2 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基8~21) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残

10

20

30

40

50

基5～18)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるS9F、Q10HおよびN11Sの変異

【0372】

- ・ヒトBCMA ECD/E3マウス (SEQ ID NO: 1011)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター3 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基24～41)が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基21～36)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基31および32の欠失ならびにQ25H、S30N、L35AおよびR39Pの変異

【0373】

- ・ヒトBCMA ECD/E4マウス (SEQ ID NO: 1012)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター4 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基42～54)が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基37～49)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるN42D、A43P、N47S、N53YおよびA54Tの変異

【0374】

- ・ヒトBCMA ECD/E5マウス (SEQ ID NO: 1013)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の22位のアミノ酸残基(イソロイシン)がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基(リジン、19位)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるI22Kの変異

【0375】

- ・ヒトBCMA ECD/E6マウス (SEQ ID NO: 1014)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の25位のアミノ酸残基(グルタミン)がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基(ヒスチジン、22位)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるQ25Hの変異

【0376】

- ・ヒトBCMA ECD/E7マウス (SEQ ID NO: 1015)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の39位のアミノ酸残基(アルギニン)がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基(プロリン、34位)で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるR39Pの変異。

【0377】

cDNA構築物を哺乳動物発現ベクターpEF-DHFRにクローニングし、CHO細胞に安定的にトランスクレクトした。CHO細胞におけるヒトBCMAの発現を、モノクローナル抗ヒトBCMA抗体を用いるFACSアッセイにおいて検証した。マウスBCMAの発現は、モノクローナル抗マウスBCMA抗体を用いて実証した。使用したBCMA抗体の濃度は、PBS/2%FCS中10 μg/mlであった。結合したモノクローナル抗体を、抗ラットIgG-Fcγ-PE (PBS/2%FCS中1:100; Jackson-Immuno-Research # 112-116-071)を用いて検出した。陰性対照として、細胞を、第1の抗体に代えてPBS/2%FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器 (Becton Dickinson)におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア(バージョン7.6)によって分析した。ヒト・マウスBCMAキメラの表面発現に関して、トランスクレクトされたCHO細胞を、様々な抗BCMA抗体を用いたフローサイトメトリーアッセイにおいて分析および確認した(図2)。

【0378】

実施例C2

2.1 HEK293細胞における一過的発現

配列検証済みのスクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、製造元のプロトコルにしたがうFreeStyle 293発現システム (Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Germany)

10

20

30

40

50

におけるトランスフェクションおよびタンパク質発現のために使用した。発現されたタンパク質を含む上清を取得し、細胞を遠心分離により除去し、そして上清を-20°で保存した。

【0379】

2.2 CHO細胞における安定的発現

配列検証済みのヌクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローニングを、該構築物の真核生物発現のために、DHFR欠損CHO細胞にトランスフェクトした。DHFR欠損CHO細胞における真核生物タンパク質発現は、Kaufman R.J. (1990) Methods Enzymol. 185, 537-566に記載されているようにして行った。構築物の遺伝子増幅を、メトトレキサート(MTX)の濃度を20 nM MTXの最終濃度になるまで増加させることによって誘導した。静置培養で2回継代した後、細胞を、収集前の7日間、ヌクレオシドフリーHyQ PF CHO液体ダイズ培地(4.0 mM L-グルタミンを含み、0.1% Pluronic F-68を含む; HyClone)を含むローラーポトル中で成長させた。細胞を遠心分離によって除去し、発現されたタンパク質を含む上清を-20°で保存した。
10

【0380】

実施例C3

マウスscFvフラグメントのエピトープクラスタリング

ヒトもしくはマウスBCMAまたはキメラBCMA分子でトランスフェクトされた細胞を、ヒト/マカクBCMAに結合するscFvを含む粗精製未希釈ペリプラズム抽出物で染色した。結合したscFvを、1 μg/mlの抗FLAG抗体(Sigma F1804)およびR-PE標識抗マウスFc特異的抗体(1:100; Dianova #115-116-071)で検出した。すべての抗体を、2% FCSを含むPBSで希釈した。陰性対照として、細胞を、ペリプラズム抽出物の代わりにPBS/2% FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器(Becton Dickinson)におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア(バージョン7.6)によって分析した。
20

【0381】

実施例C4

可溶性ヒトおよびマカクBCMAの異なる組み換え形態の入手

ヒトおよびアカゲザルBCMAのコード配列(GenBankにおいて公開、アクセッション番号NM_001192[ヒト]、XM_001106892[アカゲザル])、ヒトアルブミン、ヒトFc1およびマウスマルブルミンのコード配列を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれならびにヒトアルブルミン、ヒトIgG1Fcおよびマウスマルブルミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質ならびにBCMAの細胞外ドメインのみを含む可溶性タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性ヒトおよびマカクBCMAタンパク質の発現のための構築物を生成するために、cDNAフラグメントを、標準的プロトコルにしたがう上記の全長BCMA cDNAのPCR変異誘発および分子クローニングによって取得した。
30

ヒトアルブルミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1~54および1~53を含む、それぞれヒトおよびアカゲザルBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒト血清アルブルミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ(SGHGGHHGGHH)
40

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスIgG1との融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1~54および1~53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒトIgG1のヒンジおよびFc部分のコード配列、その後にインフレームでヘキサヒスチジンタグのコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスマルブルミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak
50

部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでマウス血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ
(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

可溶性細胞外ドメイン構築物については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly1リンカーのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ
(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

cDNAフラグメントをまた、フラグメントの最初および最後に制限部位を導入するよう設計した。導入された制限部位である5'末端のEcoRIおよび3'末端のSalIを、以下のクローニング手順で使用した。cDNAフラグメントを、EcoRIおよびSalIを通じてpEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした(pEF-DHFRは、Raum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001) 141-150に記載されている)。上記の手順はすべて、標準的なプロトコル(Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York (2001))にしたがい行った。

【0382】

実施例C5

ヒトおよびマカクBCMAおよびCD3に対する二重特異性抗体の親和性のBiacoreベースの決定

BCMAに対する標的結合を決定するため、ヒト血清アルブミン(ALB)を含む組み換えBCMA融合タンパク質を用いてBiacore分析実験を行った。CD3に対する親和性の測定のために、ヒト抗体Fc部分に融合されたCD3イプシロン(CD3e)のN末端27アミノ酸を有する組み換え融合タンパク質を使用した。この組み換えタンパク質は、ヒトCD3e 1-27バージョンおよびカニクイザルCD3eバージョンがあり、どちらも二重特異性抗体中のCD3結合体のエピトープを保有している。

詳細を述べると、CM5センサーチップ(GE Healthcare)に、製造元のマニュアルにしたがい酢酸緩衝液pH4.5を用いておよそ100～150RUの各組み換え抗原を固定化した。二重特異性抗体試料を、HBS-EP泳動緩衝液(GE Healthcare)で希釈した5つの濃度：50nM、25nM、12.5nM、6.25nMおよび3.13nMでコードした。流速は、30～35 μl/分で3分間であり、その後にHBS-EP泳動緩衝液を、再度30～35 μl/分の流速で8分間適用した。チップの再生は、10mMグリシン 0.5M NaCl pH2.45を用いて行った。データセットを、BiaEvalソフトウェアを用いて分析した。通常、2回の独立した実験を行った。

【0383】

実施例C6

フローサイトメトリー分析

親和性成熟させたscFv分子の機能性および結合強度を、ヒトおよびマカクBCMAトランسفェクトCHO細胞を用いたFACSにおいて分析した。簡潔に説明すると、およそ 10^5 個の細胞を、大腸菌細胞ペリプラズム抽出物の1:3連続希釈物50 μlと共に、氷上で50分間インキュベートした。PBS/10%FCS/0.05%アジ化ナトリウムで洗浄した後、細胞を、30 μlのFlag-M2 IgG (Sigma、PBS/10%FCS/0.05%アジ化ナトリウム中1:900)と共に、氷上で40分間インキュベートした。2回目の洗浄の後、細胞を、30 μlのR-フィヨエリトリン(PE)標識ヤギ抗マウスIgG (Jackson ImmunoResearch、PBS/10%FCS/0.05%アジ化ナトリウム中1:100)と共に、氷上で40分間インキュベートした。次に、細胞を再度洗浄し、200 μlのPBS/10%FCS/0.05%アジ化ナトリウムに再懸濁させた。染色された細胞の相対蛍光を、FACSCanto(商標)フローサイトメーター(BD)を用いて測定した。その結果が、蛍光強度の対数 対 相対

10

20

30

40

50

細胞数をプロットしたFACSヒストグラムとして示されている（図C4を参照のこと）。

【0384】

実施例C7

二重特異性の結合および異種間交差反応性

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 µg/mlの濃度の精製された二重特異性分子50 µlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞を2% FCS含有PBSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体（Qiagen；50 µlの2% FCS含有PBSで1:20希釈）で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、2% FCS含有PBSで1:100希釈された、フィコエリトリンにコンジュゲートされたFc特異的抗体（Dianova）で検出した。

10

【0385】

実施例C8

ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性抗体の親和性のScatchardベースの決定

Scatchard分析では、各々の細胞株に対する二重特異性抗体の1価結合を正確に決定するため、Micrometが開発した1価検出システム（抗His Fab/Alexa 488）を用いて飽和結合実験を行う。

それぞれの細胞株（ヒトBCMAを組換え発現するCHO細胞株、マカクBCMAを組換え発現するCHO細胞株） 2×10^4 細胞を、100nMから始まるそれぞれのBCMA二重特異性抗体の3連の希釈シリーズ（1:2の8段階希釈）各50 µlと共にインキュベートし、その後に搅拌しながら4で16時間インキュベートし、1回の残留物の洗浄工程を行う。次に、細胞を30 µlの抗His Fab/Alexa488溶液（Micromet；30 µg/ml）と共にさらに30分間インキュベートする。1回の洗浄工程の後、細胞を、3.5%ホルムアルデヒドを含む150 µlのFACS緩衝液に再懸濁し、さらに15分間インキュベートし、遠心分離し、FACS緩衝液に再懸濁し、そしてFACS Cantor II機およびFACS Divaソフトウェアを用いて分析する。データは、2回の独立した実験セットから得る。値を、双曲線の結合曲線としてプロットする。それぞれのScatchard分析から最大結合（Bmax）を推定する計算を行う。それぞれのKDを反映する最大半量結合時の二重特異性抗体の濃度を決定する。3連の測定の値を双曲線としてプロットする。最大結合を、Scatchard評価を用いて決定し、それぞれのKDを計算する。

20

【0386】

実施例C9

30

細胞毒性活性

9.1 刺激されたヒトT細胞を用いたクロム放出アッセイ

CD8⁺T細胞について濃縮され刺激されたT細胞を、以下のように得た。

ペトリ皿（直径145mm、Greiner bio-one GmbH, Kremsmunster）を、最終濃度1 µg/mlの市販の抗CD3特異的抗体（OKT3、Orthoclone）を用いて、37℃で1時間コーティングした。未結合のタンパク質を、PBSを用いた1回の洗浄工程により除去した。安定化型グルタミン/10% FCS/IL-2 20 U/ml（Proleukin（登録商標）、Chiron）を含む120mlのRPMI 1640中 $3 \sim 5 \times 10^7$ 個のヒトPBMCを、プレコートしたペトリ皿に添加し、2日間刺激した。3日目に、細胞を回収し、RPMI 1640で1回洗浄した。IL-2を最終濃度20 U/mlとなるよう添加し、そして細胞を再度、上記と同じ細胞培養培地中で1日培養した。

40

CD8⁺細胞毒性Tリンパ球（CTL）を、Dynal-Beadsを製造元のプロトコルにしたがい用いてCD4⁺T細胞およびCD56⁺NK細胞を枯渇させることにより、濃縮した。

マカクまたはヒトBCMAトランスクレクトCHO標的細胞をPBSで2回洗浄し、そして50% FCSを含む最終容積100 µlのRPMI中11.1 MBqの⁵¹Crを用いて37℃で60分間標識した。その後、標識された標的細胞を5ml RPMIで3回洗浄し、その後これを細胞毒性アッセイに使用した。アッセイは、96ウェルプレートにおいて、総容積200 µlの補充されたRPMI中、10:1のE:T比で行った。出発濃度0.01~1 µg/mlの精製された二重特異性抗体およびその3倍希釈物を使用した。アッセイにおけるインキュベート時間は、18時間であった。細胞毒性は、最大溶解（Triton-Xの添加）と自然溶解（エフェクター細胞なし）の差に対する上清中に放出されたクロムの相対値として決定した。すべての測定を4連で行った。上清中のクロ

50

ム活性の測定は、Wizard 3'' カウンター (Perkin Elmer Life Sciences GmbH, Koln, Germany) において行った。結果の分析は、Windows版Prism 5 (バージョン5.0、GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA) を用いて行った。分析プログラムによってシグモイド用量応答曲線から計算されたEC50値を、細胞毒性活性の比較に使用した。

【0387】

9.2 未刺激のヒトPBMCを用いたFACSベースの細胞毒性アッセイ

エフェクター細胞の単離

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を、血液バンクが輸血のために回収した血液の副産物である濃縮リンパ球調製物 (軟膜) からFicoll密度勾配遠心分離によって調製した。軟膜は、国内の血液バンクによって提供され、PBMCを、血液回収と同日に調製した。Ficoll密度遠心分離およびDulbecco's PBS (Gibco) による十分な洗浄の後、残った赤血球を、赤血球溶解緩衝液 (155mM NH₄Cl、10mM KHCO₃、100 μM EDTA) とのインキュベーションを通じてPBMCから除去した。血小板は、PBMCの100 × gでの遠心分離により上清を通じて除去した。残ったリンパ球は、主としてBおよびTリンパ球、NK細胞および单球を含んでいる。PBMCを、10% FCS (Gibco) を含むRPMI培地 (Gibco) 中、37 /5% CO₂下の培養により維持した。

【0388】

CD14⁺ およびCD56⁺ 細胞の枯渇

CD14⁺細胞を枯渇させるために、ヒトCD14マイクロビーズ (Miltenyi Biotec、MACS、#13 0-050-201) を使用し、NK細胞を枯渇させるために、ヒトCD56マイクロビーズ (MACS、#13 0-050-401) を使用した。PBMCをカウントし、室温で10分間、300 × gで遠心分離した。上清を廃棄し、細胞ペレットをMACS単離緩衝液 [80 μL/10⁷細胞；PBS (Invitrogen、#20012-043)、0.5% (v/v) FBS (Gibco、#10270-106)、2mM EDTA (Sigma-Aldrich、#E-6511)] に再懸濁した。CD14マイクロビーズおよびCD56マイクロビーズ (20 μL/10⁷細胞) を添加し、4~8 で15分間インキュベートした。細胞をMACS単離緩衝液 (1~2mL/10⁷細胞) で洗浄した。遠心分離後 (上記を参照のこと)、上清を廃棄し、細胞をMACS単離緩衝液 (50 0 μL/10⁸細胞) に再懸濁した。次に、CD14/CD56陰性細胞を、LSカラム (Miltenyi Biotec、#130-042-401) を用いて単離した。CD14+/CD56+細胞を含まないPBMCを、必要となるまで、37 のインキュベーターにおいて、RPMI完全培地、すなわち10% FBS (Biochrom AG、#S0115)、1 x 非必須アミノ酸 (Biochrom AG、#K0293)、10mM Hepes緩衝液 (Biochrom AG、#L1613)、1mMピルビン酸ナトリウム (Biochrom AG、#L0473) および100 U/mLペニシリン / ストレプトマイシン (Biochrom AG、#A2213) を補充したRPMI1640 (Biochrom AG、#FG1215) 中で培養した。

【0389】

標的細胞の標識

フローサイトメトリーアッセイにおける細胞溶解の分析のために、蛍光膜色素DiOC₁₈ (DiO) (Molecular Probes、#V22886) を使用して、標的細胞としてのヒトBCMAまたはマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞を標識し、それらをエフェクター細胞から区別できるようにした。簡潔に説明すると、細胞を収集し、PBSで1回洗浄し、そして2% (v/v) FBSおよび膜色素DiO (5 μL/10⁶細胞) を含むPBSで10⁶細胞/mLに調節した。37 で3分間のインキュベートの後、細胞を完全RPMI培地で2回洗浄し、そして細胞数を1.25 × 10⁵細胞/mLに調節した。細胞の生存性を、0.5% (v/v) 等張性EosinG溶液 (Roth、#45380) を用いて決定した。

【0390】

フローサイトメトリーベースの分析

このアッセイは、BCMA二重特異性抗体の連続希釈物の存在下でのマカクまたはヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞の溶解を定量するよう設計した。

等量のDiO標識標的細胞およびエフェクター細胞 (すなわち、CD14⁺細胞を含まないPBMC) を混合し、E:T細胞比を10:1にした。この懸濁物160 μLを96ウェルプレートの各ウェルに移した。40 μLの、BCMA二重特異性抗体の連続希釈物および陰性対照二重特異性 (無関

10

20

30

40

50

係の標的抗原を認識するCD3ベースの二重特異性抗体)または追加の陰性対照としてのRPMI完全培地を添加した。二重特異性抗体媒介細胞毒性反応は、7% CO₂加湿インキュベーター内で48時間進行させた。次いで、細胞を新しい96ウェルプレートに移し、標的細胞の膜完全性の喪失を、最終濃度1 μg/mLのヨウ化プロピジウム(PI)の添加によってモニタリングした。PIは、通常生きた細胞から排除される膜不透過性の色素であるが、死滅した細胞はそれを取り込み、蛍光放射によって同定可能になる。

試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した(両方ともBecton Dickinson製)。

標的細胞を、DiO陽性細胞として同定した。PI陰性標的細胞を、生きている標的細胞に分類した。細胞毒性の百分率は、次式:

$$\text{細胞毒性} [\%] = \frac{n_{\text{死滅した標的細胞}}}{n_{\text{標的細胞}}} \times 100$$

n = 事象数

にしたがって計算した。

【0391】

GraphPad Prism 5ソフトウェア(Graph Pad Software, San Diego)を使用して、細胞毒性の百分率を、対応する二重特異性抗体の濃度に対してプロットした。用量応答曲線は、一定のヒル勾配のシグモイド用量応答曲線の評価のための4パラメータロジスティック回帰モデルを用いて分析し、EC50値を計算した。

【0392】

実施例C10

BAFF受容体との交差反応の排除

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 μg/mLの濃度の精製された二重特異性分子50 μLと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞を、2% FCSを含むPBSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体(Qiagen; 2% FCSを含む50 μLのPBSで1:20希釈)で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、2% FCSを含むPBSで1:100希釈された、フィコエリトリリンにコンジュゲートされたFc特異的抗体(Dianova)で検出した。試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した(両方ともBecton Dickinson製)。二重特異性結合体は、BAFF受容体と交差反応性でないことを示した。

【0393】

実施例C11

細胞毒性活性

エフェクターT細胞をBCMA発現標的細胞に対してリダイレクトするヒト様BCMA二重特異性抗体の効力を、5つの追加のインビトロ細胞毒性アッセイにおいて分析する:

1. 刺激されたヒトエフェクターT細胞をBCMA陽性(ヒト)腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、51クロム放出アッセイにおいて測定する。
2. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
3. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をBCMA陽性(ヒト)腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
4. 交差反応性のBCMA二重特異性抗体がマカクT細胞をマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトできることを確認するため、エフェクターT細胞としてマカクT細胞株を用いてFACSベースの細胞毒性アッセイを行う。
5. 単量体形態および2量体形態のBCMA二重特異性抗体の間の効力ギャップを、標的細胞としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞およびエフェクター細胞として刺激されたヒトT細胞を用いる51クロム放出アッセイにおいて決定する。

【0394】

実施例D

10

20

30

40

50

実施例D1

キメラBCMAを発現するCHO細胞の生成

キメラエピトープマッピング分子の構築のために、ヒトBCMAの各エピトープドメインのアミノ酸配列または単一のアミノ酸残基をマウス配列に変換した。以下の分子を構築した。

【0395】

- ・ヒトBCMA ECD/E1マウス (SEQ ID NO: 1009)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター1 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基1~7) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基1~4) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基1~3の欠失およびG6Qの変異

【0396】

- ・ヒトBCMA ECD/E2マウス (SEQ ID NO: 1010)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター2 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基8~21) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基5~18) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるS9F、Q10HおよびN11Sの変異

【0397】

- ・ヒトBCMA ECD/E3マウス (SEQ ID NO: 1011)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター3 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基24~41) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基21~36) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基31および32の欠失ならびにQ25H、S30N、L35AおよびR39Pの変異

【0398】

- ・ヒトBCMA ECD/E4マウス (SEQ ID NO: 1012)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター4 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基42~54) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基37~49) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるN42D、A43P、N47S、N53YおよびA54Tの変異

【0399】

- ・ヒトBCMA ECD/E5マウス (SEQ ID NO: 1013)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の22位のアミノ酸残基（イソロイシン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（リジン、19位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるI22Kの変異

【0400】

- ・ヒトBCMA ECD/E6マウス (SEQ ID NO: 1014)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の25位のアミノ酸残基（グルタミン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（ヒスチジン、22位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるQ25Hの変異

【0401】

- ・ヒトBCMA ECD/E7マウス (SEQ ID NO: 1015)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の39位のアミノ酸残基（アルギニン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（プロリン、34位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるR39Pの変異。

【0402】

cDNA構築物を哺乳動物発現ベクターpEF-DHFRにクローニングし、CHO細胞に安定的にト

10

20

30

40

50

ランスフェクトした。CHO細胞におけるヒトBCMAの発現を、モノクローナル抗ヒトBCMA抗体を用いるFACSアッセイにおいて検証した。マウスBCMAの発現は、モノクローナル抗マウスBCMA抗体を用いて実証した。使用したBCMA抗体の濃度は、PBS/2%FCS中10 µg/mlであつた。結合したモノクローナル抗体を、抗ラットIgG-Fcγ-PE (PBS/2%FCS中1:100 ; Jackson-Immuno-Research # 112-116-071) を用いて検出した。陰性対照として、細胞を、第1の抗体に代えてPBS/2%FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器 (Becton Dickinson) におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア (バージョン7.6) によって分析した。ヒト・マウスBCMAキメラの表面発現に関して、トランスフェクトされたCHO細胞を、様々な抗BCMA抗体を用いたフローサイトメトリーアッセイにおいて分析および確認した (図2)。

10

【0403】

実施例D2

2.1 HEK293細胞における一過的発現

配列検証済みのスクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、製造元のプロトコルにしたがうFreeStyle 293発現システム (Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Germany) におけるトランスフェクションおよびタンパク質発現のために使用した。発現されたタンパク質を含む上清を取得し、細胞を遠心分離により除去し、そして上清を-20°で保存した。

【0404】

2.2 CHO細胞における安定的発現

20

配列検証済みのスクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、該構築物の真核生物発現のために、DHFR欠損CHO細胞にトランスフェクトした。DHFR欠損CHO細胞における真核生物タンパク質発現は、Kaufman R.J. (1990) Methods Enzymol. 185, 537-566に記載されているようにして行った。構築物の遺伝子増幅を、メトトレキサート (MTX) の濃度を20 nM MTXの最終濃度になるまで増加させることによって誘導した。静置培養で2回継代した後、細胞を、収集前の7日間、スクレオシドフリーHyQ PF CHO液体ダイズ培地 (4.0 mM L-グルタミンを含み、0.1% Pluronic F-68を含む; HyClone) を含むローラーポトル中で成長させた。細胞を遠心分離によって除去し、発現されたタンパク質を含む上清を-20°で保存した。

【0405】

30

実施例D3

マウスscFvフラグメントのエピトープクラスタリング

ヒトもしくはマウスBCMAまたはキメラBCMA分子でトランスフェクトされた細胞を、ヒト/マカクBCMAに結合するscFvを含む粗精製未希釈ペリプラズム抽出物で染色した。結合したscFvを、1 µg/mlの抗FLAG抗体 (Sigma F1804) およびR-PE標識抗マウスFc特異的抗体 (1:100; Dianova #115-116-071) で検出した。すべての抗体を、2% FCSを含むPBSで希釈した。陰性対照として、細胞を、ペリプラズム抽出物の代わりにPBS/2% FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器 (Becton Dickinson) におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア (バージョン7.6) によって分析した。

【0406】

40

実施例D4

可溶性ヒトおよびマカクBCMAの異なる組み換え形態の入手

ヒトおよびアカゲザルBCMAのコード配列 (GenBankにおいて公開、アクセッション番号NM_001192 [ヒト]、XM_001106892 [アカゲザル])、ヒトアルブミン、ヒトFc1およびマウスアルブミンのコード配列を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれならびにヒトアルブミン、ヒトIgG1 Fcおよびマウスアルブミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質ならびにBCMAの細胞外ドメインのみを含む可溶性タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性ヒトおよびマカクBCMAタンパク質の発現のための構築物を生成するために、cDNAフラグメントを、標準的プロトコルにしたがう上記の全長BCMA cDNAのPCR変異誘発および分子クローニングによって取得した。

50

ヒトアルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびアカゲザルBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒト血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ
(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスIgG1との融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒトIgG1のヒンジおよびFc部分のコード配列、その後にインフレームでヘキサヒスチジンタグのコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。
10

マウスアルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでマウス血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ
(SGHHGGHHGGHH)
20

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

可溶性細胞外ドメイン構築物については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly1リンカーのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ
(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

cDNAフラグメントをまた、フラグメントの最初および最後に制限部位を導入するよう設計した。導入された制限部位である5'末端のEcoRIおよび3'末端のSallを、以下のクローニング手順で使用した。cDNAフラグメントを、EcoRIおよびSallを通じてpEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした(pEF-DHFRは、Raum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001) 141-150に記載されている)。上記の手順はすべて、標準的なプロトコル(Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York (2001))にしたがい行った。
30

【0407】

実施例D5

ヒトおよびマカクBCMAおよびCD3に対する二重特異性抗体の親和性のBiacoreベースの決定
BCMAに対する標的結合を決定するため、ヒト血清アルブミン(ALB)を含む組み換えBCM
A融合タンパク質を用いてBiacore分析実験を行った。CD3に対する親和性の測定のために
、ヒト抗体Fc部分に融合されたCD3イプシロン(CD3e)のN末端27アミノ酸を有する組み換え
融合タンパク質を使用した。この組み換えタンパク質は、ヒトCD3e 1-27バージョンお
よびカニクイザルCD3eバージョンがあり、どちらも二重特異性抗体中のCD3結合体のエピ
トープを保有している。
40

詳細を述べると、CM5センサーチップ(GE Healthcare)に、製造元のマニュアルにした
がい酢酸緩衝液pH4.5を用いておよそ100～150RUの各組み換え抗原を固定化した。二重特
異性抗体試料を、HBS-EP泳動緩衝液(GE Healthcare)で希釈した5つの濃度：50nM、25nM
、12.5nM、6.25nMおよび3.13nMでロードした。流速は、30～35 μl/分で3分間であり、そ
の後にHBS-EP泳動緩衝液を、再度30～35 μl/分の流速で8分間適用した。チップの再生は
50

、10mMグリシン 0.5M NaCl pH2.45を用いて行った。データセットを、BiaEvalソフトウェアを用いて分析した（図D4を参照のこと）。通常、2回の独立した実験を行った。

【0408】

実施例D6

二重特異性の結合および異種間交差反応性

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 μg/mlの濃度の精製された二重特異性分子50 μlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞を2% FCS含有PBSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体（Qiagen；50 μlの2% FCS含有PBSで1:20希釈）で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、2% FCS含有PBSで1:100希釈された、フィコエリトリンにコンジュゲートされたFc 特異的抗体（Dianova）で検出した。

。

【0409】

実施例D7

ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性抗体の親和性のScatchardベースの決定

Scatchard分析では、各々の細胞株に対する二重特異性抗体の1価結合を正確に決定するため、Micrometが開発した1価検出システム（抗His Fab/Alexa 488）を用いて飽和結合実験を行う。

それぞれの細胞株（ヒトBCMAを組換え発現するCHO細胞株、マカクBCMAを組換え発現するCHO細胞株） 2×10^4 細胞を、100nMから始まるそれぞれのBCMA二重特異性抗体の3連の希釈シリーズ（1:2の8段階希釈）各50 μlと共にインキュベートし、その後に攪拌しながら4

で16時間インキュベートし、1回の残留物の洗浄工程を行う。次に、細胞を30 μlの抗His Fab/Alexa488溶液（Micromet；30 μg/ml）と共にさらに30分間インキュベートする。1回の洗浄工程の後、細胞を、3.5%ホルムアルデヒドを含む150 μlのFACS緩衝液に再懸濁し、さらに15分間インキュベートし、遠心分離し、FACS緩衝液に再懸濁し、そしてFACS CantoII機およびFACS Divaソフトウェアを用いて分析する。データは、2回の独立した実験セットから得る。値を、双曲線の結合曲線としてプロットする。それぞれのScatchard分析から最大結合（Bmax）を推定する計算を行う。それぞれのKDを反映する最大半量結合時の二重特異性抗体の濃度を決定する。3連の測定の値を双曲線としてプロットする。最大結合を、Scatchard評価を用いて決定し、それぞれのKDを計算する。

【0410】

実施例D8

細胞毒性活性

8.1 刺激されたヒトT細胞を用いたクロム放出アッセイ

CD8⁺T細胞について濃縮され刺激されたT細胞を、以下のように得た。

ペトリ皿（直径145mm、Greiner bio-one GmbH, Kremsmunster）を、最終濃度1 μg/mlの市販の抗CD3特異的抗体（OKT3、Orthoclone）を用いて、37 ℃で1時間コーティングした。未結合のタンパク質を、PBSを用いた1回の洗浄工程により除去した。安定化型グルタミン/10% FCS/IL-2 20 U/ml（Proleukin（登録商標）、Chiron）を含む120mlのRPMI 1640中 $3 \sim 5 \times 10^7$ 個のヒトPBMCを、プレコートしたペトリ皿に添加し、2日間刺激した。3日目に細胞を回収し、RPMI 1640で1回洗浄した。IL-2を最終濃度20 U/mlとなるよう添加し、そして細胞を再度、上記と同じ細胞培養培地中で1日培養した。

CD8⁺細胞毒性Tリンパ球（CTL）を、Dynal -Beadsを製造元のプロトコルにしたがい用いてCD4⁺T細胞およびCD56⁺NK細胞を枯渇させることにより、濃縮した。

マカクまたはヒトBCMAトランスクレクトCHO標的細胞をPBSで2回洗浄し、そして50% FCSを含む最終容積100 μlのRPMI中11.1 MBqの⁵¹Crを用いて37 ℃で60分間標識した。その後、標識された標的細胞を5ml RPMIで3回洗浄し、その後これを細胞毒性アッセイに使用した。アッセイは、96ウェルプレートにおいて、総容積200 μlの補充されたRPMI中、10:1のE:T比で行った。出発濃度0.01~1 μg/mlの精製された二重特異性抗体およびその3倍希釈物を使用した。アッセイにおけるインキュベート時間は、18時間であった。細胞毒性は、最大溶解（Triton-Xの添加）と自然溶解（エフェクター細胞なし）の差に対する上清中に

10

20

30

40

50

放出されたクロムの相対値として決定した。すべての測定を4連で行った。上清中のクロム活性の測定は、Wizard 3'' カウンター (Perkin Elmer Life Sciences GmbH, Koln, Germany)において行った。結果の分析は、Windows版Prism 5 (バージョン5.0、GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA) を用いて行った。分析プログラムによってシグモイド用量応答曲線から計算されたEC50値を、細胞毒性活性の比較に使用した(図D5を参照のこと)。

【0411】

8.2 未刺激のヒトPBMCを用いたFACSベースの細胞毒性アッセイ エフェクター細胞の単離

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を、血液バンクが輸血のために回収した血液の副産物である濃縮リンパ球調製物 (軟膜) からFicoll密度勾配遠心分離によって調製した。軟膜は、国内の血液バンクによって提供され、PBMCを、血液回収と同日に調製した。Ficoll密度遠心分離およびDulbecco's PBS (Gibco) による十分な洗浄の後、残った赤血球を、赤血球溶解緩衝液 (155mM NH₄Cl、10mM KHCO₃、100 μM EDTA)とのインキュベーションを通じてPBMCから除去した。血小板は、PBMCの100 × gでの遠心分離により上清を通じて除去した。残ったリンパ球は、主としてBおよびTリンパ球、NK細胞および单球を含んでいる。PBMCを、10% FCS (Gibco) を含むRPMI培地 (Gibco) 中、37 °C/5% CO₂下の培養により維持した。

【0412】

CD14⁺およびCD56⁺細胞の枯渴

CD14⁺細胞を枯渴させるために、ヒトCD14マイクロビーズ (Miltenyi Biotec、MACS、#130-050-201) を使用し、NK細胞を枯渴させるために、ヒトCD56マイクロビーズ (MACS、#130-050-401) を使用した。PBMCをカウントし、室温で10分間、300 × gで遠心分離した。上清を廃棄し、細胞ペレットをMACS単離緩衝液 [80 μL/10⁷細胞；PBS (Invitrogen、#20012-043)、0.5% (v/v) FBS (Gibco、#10270-106)、2mM EDTA (Sigma-Aldrich、#E-6511)]に再懸濁した。CD14マイクロビーズおよびCD56マイクロビーズ (20 μL/10⁷細胞)を添加し、4~8 °Cで15分間インキュベートした。細胞をMACS単離緩衝液 (1~2mL/10⁷細胞)で洗浄した。遠心分離後 (上記を参照のこと)、上清を廃棄し、細胞をMACS単離緩衝液 (500 μL/10⁸細胞)に再懸濁した。次に、CD14/CD56陰性細胞を、LSカラム (Miltenyi Biotec、#130-042-401) を用いて単離した。CD14+/CD56+細胞を含まないPBMCを、必要となるまで、37 °Cのインキュベーターにおいて、RPMI完全培地、すなわち10% FBS (Biochrom AG、#S0115)、1 x 非必須アミノ酸 (Biochrom AG、#K0293)、10mM Hepes緩衝液 (Biochrom AG、#L1613)、1mMピルビン酸ナトリウム (Biochrom AG、#L0473) および100 U/mLペニシリン /ストレプトマイシン (Biochrom AG、#A2213) を補充したRPMI1640 (Biochrom AG、#FG1215) 中で培養した。

【0413】

標的細胞の標識

フローサイトメトリーアッセイにおける細胞溶解の分析のために、蛍光膜色素DiOC₁₈ (DiO) (Molecular Probes、#V22886)を使用して、標的細胞としてのヒトBCMAまたはマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞を標識し、それらをエフェクター細胞から区別できるようにした。簡潔に説明すると、細胞を収集し、PBSで1回洗浄し、そして2% (v/v) FBSおよび膜色素DiO (5 μL/10⁶細胞)を含むPBSで10⁶細胞/mLに調節した。37 °Cで3分間のインキュベートの後、細胞を完全RPMI培地で2回洗浄し、そして細胞数を1.25 × 10⁵細胞/mLに調節した。細胞の生存性を、0.5% (v/v)等張性EosinG溶液 (Roth、#45380) を用いて決定した。

【0414】

フローサイトメトリーベースの分析

このアッセイは、BCMA二重特異性抗体の連続希釈物の存在下でのマカクまたはヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞の溶解を定量するよう設計した。

等量のDiO標識標的細胞およびエフェクター細胞 (すなわち、CD14⁺細胞を含まないPBMC

10

20

30

40

50

)を混合し、E:T細胞比を10:1にした。この懸濁物160 μLを96ウェルプレートの各ウェルに移した。40 μLの、BCMA二重特異性抗体の連続希釈物および陰性対照二重特異性（無関係の標的抗原を認識するCD3ベースの二重特異性抗体）または追加の陰性対照としてのRPMI完全培地を添加した。二重特異性抗体媒介細胞毒性反応は、7% CO₂加湿インキュベーター内で48時間進行させた。次いで、細胞を新しい96ウェルプレートに移し、標的細胞の膜完全性の喪失を、最終濃度1 μg/mLのヨウ化プロピジウム（PI）の添加によってモニタリングした。PIは、通常生きた細胞から排除される膜不透過性の色素であるが、死滅した細胞はそれを取り込み、蛍光放射によって同定可能になる。

試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した（両方ともBecton Dickinson製）。 10

標的細胞を、DiO陽性細胞として同定した。PI陰性標的細胞を、生きている標的細胞に分類した。細胞毒性の百分率は、次式：

$$\text{細胞毒性} [\%] = \frac{n_{\text{死滅した標的細胞}}}{n_{\text{標的細胞}}} \times 100$$

n = 事象数

にしたがって計算した。

【0415】

GraphPad Prism 5ソフトウェア（Graph Pad Software, San Diego）を使用して、細胞毒性の百分率を、対応する二重特異性抗体の濃度に対してプロットした。用量応答曲線は、一定のヒル勾配のシグモイド用量応答曲線の評価のための4パラメータロジスティック回帰モデルを用いて分析し、EC50値を計算した。 20

【0416】

実施例D9

BAFF受容体との交差反応の排除

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 μg/mlの濃度の精製された二重特異性分子50 μlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞を、2% FCSを含むPBSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体（Qiagen；2% FCSを含む50 μlのPBSで1:20希釈）で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、2% FCSを含むPBSで1:100希釈された、フィコエリトリンにコンジュゲートされたFc特異的抗体（Dianova）で検出した。試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した（両方ともBecton Dickinson製）。二重特異性結合体は、BAFF受容体と交差反応性でないことを示した。 30

【0417】

実施例D10

細胞毒性活性

エフェクターT細胞をBCMA発現標的細胞に対してリダイレクトするヒト様BCMA二重特異性抗体の効力を、5つの追加のインビトロ細胞毒性アッセイにおいて分析する：

1. 刺激されたヒトエフェクターT細胞をBCMA陽性（ヒト）腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、51クロム放出アッセイにおいて測定する。 40
2. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
3. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をBCMA陽性（ヒト）腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
4. 交差反応性のBCMA二重特異性抗体がマカクT細胞をマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトできることを確認するため、エフェクターT細胞としてマカクT細胞株を用いてFACSベースの細胞毒性アッセイを行う。
5. 単量体形態および2量体形態のBCMA二重特異性抗体の間の効力ギャップを、標的細胞としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞およびエフェクター細胞として刺激されたヒトT細胞を用いる51クロム放出アッセイにおいて決定する。 50

【0418】

実施例E実施例E1

キメラBCMAを発現するCHO細胞の生成

キメラエピトープマッピング分子の構築のために、ヒトBCMAの各エピトープドメインのアミノ酸配列または単一のアミノ酸残基をマウス配列に変換した。以下の分子を構築した。

【0419】

- ・ヒトBCMA ECD/E1マウス (SEQ ID NO: 1009)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター1 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基1~7) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基1~4) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基1~3の欠失およびG6Qの変異

【0420】

- ・ヒトBCMA ECD/E2マウス (SEQ ID NO: 1010)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター2 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基8~21) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基5~18) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるS9F、Q10HおよびN11Sの変異

【0421】

- ・ヒトBCMA ECD/E3マウス (SEQ ID NO: 1011)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター3 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基24~41) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基21~36) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるアミノ酸残基31および32の欠失ならびにQ25H、S30N、L35AおよびR39Pの変異

【0422】

- ・ヒトBCMA ECD/E4マウス (SEQ ID NO: 1012)

キメラ細胞外BCMAドメイン：エピトープクラスター4 (SEQ ID NO: 1002または1007のアミノ酸残基42~54) が各々のマウスクラスター (SEQ ID NO: 1004または1008のアミノ酸残基37~49) で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるN42D、A43P、N47S、N53YおよびA54Tの変異

【0423】

- ・ヒトBCMA ECD/E5マウス (SEQ ID NO: 1013)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の22位のアミノ酸残基（イソロイシン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（リジン、19位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるI22Kの変異

【0424】

- ・ヒトBCMA ECD/E6マウス (SEQ ID NO: 1014)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の25位のアミノ酸残基（グルタミン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（ヒスチジン、22位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるQ25Hの変異

【0425】

- ・ヒトBCMA ECD/E7マウス (SEQ ID NO: 1015)

キメラ細胞外BCMAドメイン：SEQ ID NO: 1002または1007の39位のアミノ酸残基（アルギニン）がSEQ ID NO: 1004または1008の各々のマウスアミノ酸残基（プロリン、34位）で置き換えられたヒト細胞外BCMAドメイン

SEQ ID NO: 1002または1007におけるR39Pの変異。

10

20

30

40

50

【 0 4 2 6 】

A) cDNA構築物を哺乳動物発現ベクターpEF-DHFRにクローニングし、CHO細胞に安定的にトランスフェクトした。CHO細胞におけるヒトBCMAの発現を、モノクローナル抗ヒトBCMA抗体を用いるFACSアッセイにおいて検証した。マウスBCMAの発現は、モノクローナル抗マウスBCMA抗体を用いて実証した。使用したBCMA抗体の濃度は、PBS/2%FCS中10 μg/mlであった。結合したモノクローナル抗体を、抗ラットIgG-Fc -PE (PBS/2%FCS中1:100 ; Jackson-Immuno-Research # 112-116-071) を用いて検出した。陰性対照として、細胞を、第1の抗体に代えてPBS/2%FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器 (Becton Dickinson) におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア (バージョン7.6) によって分析した。ヒト・マウスBCMAキメラの表面発現に関して、トランスフェクトされたCHO細胞を、様々な抗BCMA抗体を用いたフローサイトメトリーアッセイにおいて分析および確認した (図2) 。 10

【 0 4 2 7 】

B) ヒト、マカク、マウスおよびヒト／マウスキメラ膜貫通BCMAを発現するCHO細胞の生成のために、ヒト、マカク、マウスBCMAおよびヒト・マウスBCMAキメラのコード配列 (GenBankアクセション番号NM_0011192 [ヒト] ; NM_011608 [マウス] およびXM_001106892 [マカク] として公開されているBCMA配列) を、標準的な方法にしたがい遺伝子合成によって得た。遺伝子合成フラグメントは、ヒト配列の各エピトープドメインがマウス配列と交換されているキメラの場合、各々、最初に該構築物の真核生物発現のためのKozak部位および19アミノ酸免疫グロブリンリーダーペプチドのコード配列を、その後にインフレームでBCMAタンパク質のコード配列を含むよう設計した。 20

【 0 4 2 8 】

ヒトBCMA ECD/E4マウスおよびヒトBCMA構築物を除いて、BCMAタンパク質の細胞外ドメインのコード配列の後に、インフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にヒトEpCAMの細胞内ドメイン (アミノ酸226～314 ; GenBankアクセション番号NM_002354として公開されている配列) 、となるようにした。

【 0 4 2 9 】

すべてのコード配列の後に停止コドンが続くようにした。また、遺伝子合成フラグメントを、適当な制限部位が導入されるよう設計した。遺伝子合成フラグメントを、pEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした (pEF-DHFRはRaum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001) 141-150に記載されている) 。上記手順はすべて、標準的な方法にしたがい行った (Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York (2001)) 。抗原ごとに、配列検証済みのスクレオチド配列を有するクローンを、該構築物の真核生物発現のためのDHFR欠損CHO細胞にトランスフェクトした。DHFR欠損CHO細胞における真核生物タンパク質発現は、Kaufman R.J. (1990) Methods Enzymol. 185, 537-566に記載されているようにして行った。構築物の遺伝子増幅を、メトトレキサート (MTX) の濃度が最大20 nM MTXの最終濃度になるまで増加させることによって誘導した。 30

【 0 4 3 0 】**実施例E2****2.1 HEK293細胞における一過的発現**

配列検証済みのスクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、製造元のプロトコルにしたがうFreeStyle 293発現システム (Invitrogen GmbH, Karlsruhe, Germany) におけるトランスフェクションおよびタンパク質発現のために、使用した。発現されたタンパク質を含む上清を取得し、細胞を遠心分離により除去し、そして上清を-20 ℃で保存した。

【 0 4 3 1 】**2.2 CHO細胞における安定的発現**

配列検証済みのスクレオチド配列を有する発現プラスミドのクローンを、該構築物の真核生物発現のために、DHFR欠損CHO細胞にトランスフェクトした。DHFR欠損CHO細胞におけ 50

る真核生物タンパク質発現は、Kaufman R.J. (1990) Methods Enzymol. 185, 537-566に記載されているようにして行った。構築物の遺伝子増幅を、メトトレキサート (MTX) の濃度を20 nM MTXの最終濃度になるまで増加させることによって誘導した。静置培養で2回継代した後、細胞を、収集前の7日間、ヌクレオシドフリーHyQ PF CHO液体ダイズ培地 (4.0 mM L-グルタミンを含み、0.1% Pluronic F-68を含む; HyClone) を含むローラーボトル中で成長させた。細胞を遠心分離によって除去し、発現されたタンパク質を含む上清を -20°で保存した。

【0432】

2.3 タンパク質の精製

可溶性のBCMAタンパク質の精製は、以下のように行った。Akta (登録商標) エクスプローラシステム (GE Healthcare) およびUnicorn (登録商標) ソフトウェアをクロマトグラフィーに使用した。ZnCl₂を負荷したFractogel EMDキレート (登録商標) (Merck) を製造元の提供するプロトコルにしたがい用いて、固定化金属親和性クロマトグラフィー (「IMAC」) を行った。カラムを緩衝液A (20mMリン酸ナトリウム緩衝液pH7.2、0.1M NaCl) で平衡化し、ろ過した (0.2 μmの) 細胞培養上清を3ml/分の流速でカラム (10ml) に適用した。未結合の試料を除去するため、カラムを緩衝液Aで洗浄した。結合したタンパク質を、以下の手順にしたがい、2段勾配の緩衝液B (20mMリン酸ナトリウム緩衝液pH7.2、0.1 M NaCl、0.5Mイミダゾール) を用いて溶出させた：

第1段階：6カラム容積の10%緩衝液B

第2段階：6カラム容積の100%緩衝液B。

第2段階により溶出したタンパク質画分をさらなる精製のために集めた。すべての化合物は研究グレードのものであり、Sigma (Deisenhofen) またはMerck (Darmstadt) から購入した。

ゲルろ過クロマトグラフィーは、Equi緩衝液 (HEK細胞で発現させたタンパク質については10mMケエン酸塩、25mMリジン・HCl、pH7.2、CHO細胞で発現させたタンパク質についてはPBS pH7.4) で平衡化させたHiLoad 16/60 Superdex 200分取グレードカラム (GE/Amersham) において行った。溶出したタンパク質試料 (流速1ml/分) を、検出のために標準的なSDS-PAGEおよびウェスタンプロットに供した。タンパク質濃度は、OD280nmを用いて決定した。

HEK293細胞における一過的発現を通じて得られたタンパク質を、免疫処置に使用した。CHO細胞における安定的発現を通じて得られたタンパク質を、結合体の選択および結合の測定に使用した。

【0433】

実施例E3

マウスscFvフラグメントのエピトープクラスタリング

ヒトもしくはマウスBCMAまたはキメラBCMA分子でトランスフェクトされた細胞を、ヒト/マカクBCMAに結合するscFvを含む粗精製未希釈ペリプラズム抽出物で染色した。結合したscFvを、1 μg/mlの抗FLAG抗体 (Sigma F1804) およびR-PE標識抗マウスFc特異的抗体 (1:100; Dianova #115-116-071) で検出した。すべての抗体を、2% FCSを含むPBSで希釈した。陰性対照として、細胞を、ペリプラズム抽出物の代わりにPBS/2% FCSと共にインキュベートした。試料を、FACSCanto II機器 (Becton Dickinson) におけるフローサイトメトリーによって測定し、FlowJoソフトウェア (バージョン7.6) によって分析した。図E3を参照のこと。

【0434】

実施例E4

可溶性ヒトおよびマカクBCMAの異なる組み換え形態の入手

A) ヒトおよびアカゲザルBCMAのコード配列 (GenBankにおいて公開、アクセスション番号NM_001192[ヒト]、XM_001106892[アカゲザル])、ヒトアルブミン、ヒトFc 1およびマウスアルブミンのコード配列を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれならびにヒトアルブミン、ヒトIgG1 Fcおよびマウスアルブミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質ならびにBCM

10

20

30

40

50

Aの細胞外ドメインのみを含む可溶性タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性ヒトおよびマカクBCMAタンパク質の発現のための構築物を生成するために、cDNAフラグメントを、標準的プロトコルにしたがう上記の全長BCMA cDNAのPCR変異誘発および分子クローニングによって取得した。

ヒトアルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザル（またはマカカ・ムラタ）BCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびアカゲザルBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ(SGHHGGHHGGHH)

10

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスIgG1との融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでヒトIgG1のヒンジおよびFc部分のコード配列、その後にインフレームでヘキサヒスチジンタグのコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

マウスアルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでマウス血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ(SGHHGGHHGGHH)

20

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

可溶性細胞外ドメイン構築物については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位、その後にヒトおよびアカゲザルBCMAの細胞外ドメインに対応するそれぞれアミノ酸1～54および1～53を含む、それぞれヒトおよびマカクBCMAタンパク質のコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly1リンカーのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ(SGHHGGHHGGHH)

30

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

cDNAフラグメントをまた、フラグメントの最初および最後に制限部位を導入するよう設計した。導入された制限部位である5'末端のEcoRIおよび3'末端のSalIを、以下のクローニング手順で使用した。cDNAフラグメントを、EcoRIおよびSalIを通じてpEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした（pEF-DHFRは、Raum et al. Cancer Immunol Immunother 50 (2001) 141-150に記載されている）。上記の手順はすべて、標準的なプロトコル（Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York (2001)）にしたがい行った。

40

【0435】

B) 上記のヒトおよびマカクBCMAのコード配列ならびにヒトアルブミン、ヒトFc 1、マウスFc 1、マウスFc 2a、マウスアルブミン、ラットアルブミン、ラットFc 1およびラットFc 2bのコード配列を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれならびにヒトアルブミン、ヒトIgG1 Fc、マウスIgG1 Fc、マウスIgG2a Fc、マウスアルブミン、ラットIgG1 Fc、ラットIgG2bおよびラットアルブミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質ならびにBCMAの細胞外ドメインのみを含む可溶性タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性ヒトおよびマカクBCMAタンパク質の発現のための構築物を生成するために、cDNAフラグメントを、標準的プロトコルにしたがう上記の全長BCMA cDNAのPCR変異誘発および分子クローニングによって取得した。

50

アルブミンとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位および19アミノ酸免疫グロブリンリーダーペプチドのコード配列、その後にインフレームでそれぞれのBCMAタンパク質の細胞外ドメインのコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、その後にインフレームでそれぞれの血清アルブミンのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ
(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

IgG Fcとの融合体については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位および19アミノ酸免疫グロブリンリーダーペプチドのコード配列、その後にインフレームでそれぞれのBCMAタンパク質の細胞外ドメインのコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly4-Ser1リンカーのコード配列、ただしヒトIgG1 Fcの場合は人工Ser1-Gly1リンカーを使用、その後にインフレームでそれぞれのIgGのヒンジおよびFc部分のコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

可溶性細胞外ドメイン構築物については、最初に構築物の真核生物発現のためのKozak部位および19アミノ酸免疫グロブリンリーダーペプチドのコード配列、その後にインフレームでそれぞれのBCMAタンパク質の細胞外ドメインのコード配列、その後にインフレームで人工Ser1-Gly1リンカーのコード配列、その後にインフレームでFlagタグのコード配列、その後にインフレームで修飾ヒスチジンタグ

(SGHHGGHHGGHH)

のコード配列および停止コドンを含むよう、修飾cDNAフラグメントを設計した。

構築物のクローニングのために、適当な制限部位を導入した。cDNAフラグメントはすべて、pEF-DHFRと呼ばれるプラスミドにクローニングした (pEF-DHFR は、Raum et al. 2001 に記載されている)。上記の手順はすべて、標準的なプロトコル (Sambrook, 2001) にしたがい行った。

以下の構築物は、別々のエピトープに対して向けられたパンニングが可能なように設計した。マウス・ヒトBCMAキメラのおよびマウス・マカクBCMAキメラのコード配列 (マウス 30 、ヒトおよびマカクBCMAの配列は上記の通り) ならびにマウスアルブミンおよびマウスFc

1のコード配列を、マウス・ヒトおよびマウス・マカクBCMAキメラのそれぞれならびにマウスIgG1 Fcおよびマウスアルブミンのそれぞれの可溶性融合タンパク質をコードする人工cDNA配列の構築に使用した。可溶性マウス・ヒトおよびマウス・マカクBCMAキメラの発現のための構築物を生成するため、そのヒトおよびマカク配列のそれぞれに対して変異が加えられたそれぞれのエピトープドメインを含むマウスBCMA (アミノ酸1~49) のcDNAフラグメントを、標準的なプロトコルにしたがう遺伝子合成によって得た。構築物のクローニングを上記のようにおよび標準的なプロトコル (Sambrook, 2001) にしたがい行った。

以下の分子を構築した :

- ・アミノ酸1~4ヒト、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸1~4ヒト、マウスアルブミン
- ・アミノ酸1~4アカゲザル、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸1~4アカゲザル、マウスアルブミン
- ・アミノ酸5~18ヒト、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸5~18ヒト、マウスアルブミン
- ・アミノ酸5~18アカゲザル、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸5~18アカゲザル、マウスアルブミン
- ・アミノ酸37~49ヒト、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸37~49ヒト、マウスアルブミン

10

20

30

40

50

- ・アミノ酸37～49アカゲザル、マウスIgG1 Fc
- ・アミノ酸37～49アカゲザル、マウスアルブミン

【0436】

実施例E5

5.1 ヒトおよびマカクBCMAおよびCD3に対する二重特異性抗体の親和性のBiacoreベースの決定

BCMAに対する標的結合を決定するため、ヒト血清アルブミン（ALB）を含む組み換えBCMA融合タンパク質を用いてBiacore分析実験を行った。CD3に対する親和性の測定のために、ヒト抗体Fc部分に融合されたCD3イプシロン（CD3e）のN末端27アミノ酸を有する組み換え融合タンパク質を使用した。この組み換えタンパク質は、ヒトCD3e 1-27版およびカニクイザルCD3e版があり、どちらも二重特異性抗体のCD3結合部分のエピトープを保有している。

詳細を述べると、CM5センサーチップ（GE Healthcare）に、製造元のマニュアルにしたがい酢酸緩衝液pH4.5を用いておよそ100～150RUの各組み換え抗原を固定化した。二重特異性抗体試料を、HBS-EP泳動緩衝液（GE Healthcare）で希釀した5つの濃度：50nM、25nM、12.5nM、6.25nMおよび3.13nMでロードした。流速は、30～35 μl/minで3分間であり、その後にHBS-EP泳動緩衝液を、再度30～35 μl/mlの流速で8分間適用した。チップの再生は、10mMグリシン 0.5M NaCl pH2.45を用いて行った。データセットを、BiaEvalソフトウェアを用いて分析した（図E4を参照のこと）。通常、2回の独立した実験を行った。

【0437】

5.2 ヒトおよびマカクBCMAに対する結合親和性

ヒトおよびマカクBCMAに対するBCMA/CD3二重特異性抗体の結合親和性を、マウスアルブミン（ALB）を含む組み換えBCMA融合タンパク質を用いたBiacore分析によって決定した。

【0438】

詳細を述べると、CM5センサーチップ（GE Healthcare）に、製造元のマニュアルにしたがい酢酸緩衝液pH4.5を用いておよそ150～200RUの各組み換え抗原を固定化した。二重特異性抗体試料を、HBS-EP泳動緩衝液（GE Healthcare）で希釀した5つの濃度：50nM、25nM、12.5nM、6.25nMおよび3.13nMでロードした。BCMAの親和性の決定については、流速を35 μl/minで3分間とし、その後にHBS-EP泳動緩衝液を、再度35 μl/mlの流速で10、30または60分間適用した。チップの再生は、10mMグリシン 0.5M NaCl pH1.5および6M塩化グアニジン溶液の1:1混合物からなる緩衝液を用いて行った。データセットを、BiaEvalソフトウェアを用いて分析した（図E6を参照のこと）。通常、2回の独立した実験を行った。

【0439】

ヒトおよびマカクCD3イプシロンに対する結合の確認を、BCMA結合に適用したのと同じ濃度を用いた1回の実験において行い；オフレートの決定を10分間の解離時間で行った。

【0440】

エピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体すべては、ヒトBCMAに対して、1桁台のピコモル範囲～サブナノモル範囲の高い親和性を示した。マカクBCMAに対する結合もそれに釣り合ったものであり、サブナノモル範囲～1桁台のナノモル範囲の親和性を示した。BCMA/CD3二重特異性抗体の親和性および親和性ギャップが表2に示されている。

【0441】

（表2）Biacore分析によって決定されたヒトおよびマカクBCMAに対するエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性および算出された親和性ギャップ（マカクBCMA：ヒトBCMA）

10

20

30

40

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | hu BCMA [nM] | ma BCMA [nM] | 親和性ギャップ ma BCMA : hu BCMA |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| BCMA-83 | 0.031 | 0.077 | 2.5 |
| BCMA-98 | 0.025 | 0.087 | 3.5 |
| BCMA-71 | 0.60 | 2.2 | 3.7 |
| BCMA-34 | 0.051 | 0.047 | 1 : 1.1 |
| BCMA-74 | 0.088 | 0.12 | 1.4 |
| BCMA-20 | 0.0085 | 0.016 | 1.9 |

10

【 0 4 4 2 】**5.3 ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性抗体の親和性のBiacoreベースの決定**

CM5チップ上の組み換え可溶性BCMAに対するBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性のBiacore測定を、より長い解離期間（以前の実験で使用した10分間に代えて60分間）を使用してKDおよび特にオフレートを再確認するために繰り返した。試験したBCMA/CD3二重特異性抗体のすべてについて、各々5つの異なる濃度を用いる2回の独立した親和性測定を行った。

【 0 4 4 3 】

エピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性は、明確に、1桁台のピコモル～サブナノモルであった。表3の例を参照のこと。

20

【 0 4 4 4 】

(表3) 長い解離時間用いたBiacore実験におけるエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性 (KD) (各々2回の独立した実験)

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | KD [nM] ヒト BCMA | KD [nM] マカク BCMA |
|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| BCMA-83 | 0.053 ± 0.017 | 0.062 ± 0.011 |
| BCMA-98 | 0.025 ± 0.003 | 0.060 ± 0.001 |
| BCMA-71 | 0.242 ± 0.007 | 0.720 ± 0.028 |
| BCMA-34 | 0.089 ± 0.019 | 0.056 ± 0.003 |
| BCMA-74 | 0.076 ± 0.002 | 0.134 ± 0.010 |
| BCMA-20 | 0.0095 ± 0.0050 | 0.0060 ± 0.0038 |

30

【 0 4 4 5 】**実施例E6****二重特異性結合および種間交差反応性**

ヒトおよびマカクBCMAおよびCD3への結合を確認するため、二重特異性抗体を、ヒトおよびマカクBCMAのそれぞれでトランスフェクトしたCHO細胞、ネイティブのヒトBCMAを発現するヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929、CD3発現ヒトT細胞白血病細胞株HPB-ALL (DSMZ, Braunschweig, ACC483) およびCD3発現マカクT細胞株4119LnPx (Knappe A, et al., Blood, 2000, 95, 3256-3261) を用いたフローサイトメトリーによって試験した。さらに、未トランスフェクトCHO細胞を陰性対照として使用した。

40

【 0 4 4 6 】

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を、5 μg/mlの濃度の精製された二重特異性抗体50 μlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞をPBS/2% FCSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体 (Qiagen; 50 μl PBS/2% FCSで1:20希釈) で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、PBS/2% FCSで1:100希釈された、フ

50

イコエリトリンにコンジュゲートされたFc特異的抗体(Dianova)で検出した。試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した(両方ともBecton Dickinson製)。

【0447】

エピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体は、ヒトおよびマカクBCMAでトランسفェクトされたCHO細胞、ヒトBCMAを発現する多発性骨髄腫細胞株NCI-H929ならびにヒトおよびマカクT細胞を染色した。さらに、未トランسفェクトCHO細胞は染色されなかった(図E7を参照のこと)。

【0448】

実施例E7 10

ヒトおよびマカクBCMAに対する二重特異性抗体の親和性のScatchardベースの決定

Scatchard分析では、各々の細胞株に対する二重特異性抗体の1価結合を正確に決定するため、Micrometが開発した1価検出システム(抗His Fab/Alexa 488)を用いて飽和結合実験を行う。

それぞれの細胞株(ヒトBCMAを組換え発現するCHO細胞株、マカクBCMAを組換え発現するCHO細胞株) 2×10^4 細胞を、100nMから始まるそれぞれのBCMA二重特異性抗体の3連の希釈シリーズ(1:2の8段階希釈)各 $50 \mu\text{l}$ と共にインキュベートし、その後に攪拌しながら4℃で16時間インキュベートし、1回の残留物の洗浄工程を行う。次に、細胞を $30 \mu\text{l}$ の抗His Fab/Alexa488溶液(Micromet; 30 μg/ml)と共にさらに30分間インキュベートする。1回の洗浄工程の後、細胞を、3.5%ホルムアルデヒドを含む $150 \mu\text{l}$ のFACS緩衝液に再懸濁し、さらに15分間インキュベートし、遠心分離し、FACS緩衝液に再懸濁し、そしてFACSCantol II機およびFACSDivaソフトウェアを用いて分析する。データは、2回の独立した実験セットから得る。値を、双曲線の結合曲線としてプロットする。それぞれのScatchard分析から最大結合(B_{max})を推定する計算を行う。それぞれのKDを反映する最大半量結合(half-maximal binding)時の二重特異性抗体の濃度を決定する。3連の測定の値を双曲線としてプロットする。最大結合を、Scatchard評価を用いて決定し、それぞれのKDを計算する。

【0449】

ヒトまたはマカクBCMAでトランسفェクトされたCHO細胞に対するBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性を、ヒトおよびマカクBCMA間の潜在的な親和性ギャップを測定する上で最も信頼性の高い方法である、Scatchard分析によって決定した。

【0450】

BCMA抗原を発現する細胞を、それぞれの単量体BCMA/CD3二重特異性抗体の濃度を飽和に達するまで増やしつつインキュベートした(16時間)。結合した二重特異性抗体を、フローサイトメトリーによって検出した。それぞれのKDを反映する最大半量結合時のBCMA/CD3二重特異性抗体の濃度を決定した。

【0451】

最小結合から最適結合までの適当な濃度範囲を実証するために、3連の測定の値を双曲線およびS字曲線としてプロットした。最大結合(B_{max})を、Scatchard評価を用いて決定し(図E8)、それぞれのKDを計算した。表4に示される値は、各BCMA/CD3二重特異性抗体につき2回の独立した実験から得られたものである。

【0452】

細胞ベースのScatchard分析により、エピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体のヒトBCMAに対する親和性はサブナノモルであり、5未満の小さな種間BCMA親和性ギャップを示すことが確認された。

【0453】

(表4)細胞ベースのScatchard分析(各々2回の独立した実験)におけるエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体の親和性(KD)および算出されたKDマカクBCMA/KDヒトBCMAの親和性ギャップ

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | KD [nM] ヒト BCMA | KD [nM] マカク BCMA | x倍のKD差異 KD ma 対 KD hu BCMA |
|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| BCMA-83 | 0.40 ± 0.13 | 1.22 ± 0.25 | 3.1 |
| BCMA-98 | 0.74 ± 0.02 | 1.15 ± 0.64 | 1.6 |
| BCMA-71 | 0.78 ± 0.07 | 3.12 ± 0.26 | 4.0 |
| BCMA-34 | 0.77 ± 0.11 | 0.97 ± 0.33 | 1.3 |
| BCMA-74 | 0.67 ± 0.03 | 0.95 ± 0.06 | 1.4 |
| BCMA-20 | 0.78 ± 0.10 | 0.85 ± 0.01 | 1.1 |

10

【 0 4 5 4 】

実施例E8

細胞毒性活性

8.1 刺激されたヒトT細胞を用いたクロム放出アッセイ

CD8⁺T細胞について濃縮され刺激されたT細胞を、後述のように得た：

ペトリ皿（直径145mm、Greiner bio-one GmbH, Kremsmunster）を、最終濃度1 μg/mlの市販の抗CD3特異的抗体（OKT3、Orthoclone）を用いて、37℃で1時間コーティングした。未結合のタンパク質を、PBSを用いた1回の洗浄工程により除去した。安定化型グルタミン/10% FCS/IL-2 20 U/ml（Proleukin（登録商標）、Chiron）を含む120mlのRPMI 1640中3~5 × 10⁷個のヒトPBMCを、プレコートしたペトリ皿に添加し、2日間刺激した。3日目に細胞を回収し、RPMI 1640で1回洗浄した。IL-2を最終濃度20 U/mlとなるよう添加し、そして細胞を再度、上記と同じ細胞培養培地中で1日培養した。

CD8⁺細胞毒性Tリンパ球（CTL）を、Dynal-Beadsを製造元のプロトコルにしたがい用いてCD4⁺T細胞およびCD56⁺NK細胞を枯渇させることにより、濃縮した。

【 0 4 5 5 】

マカクまたはヒトBCMAトランスフェクトCHO標的細胞をPBSで2回洗浄し、そして50% FC Sを含む最終容積100 μlのRPMI中11.1 MBqの⁵¹Crを用いて37℃で60分間標識した。その後、標識された標的細胞を5ml RPMIで3回洗浄し、その後これを細胞毒性アッセイに使用した。アッセイは、96ウェルプレートにおいて、総容積200 μlの補充されたRPMI中、10:1のE:T比で行った。出発濃度0.01~1 μg/mlの精製された二重特異性抗体およびその3倍希釈物を使用した。アッセイにおけるインキュベート時間は、18時間であった。細胞毒性は、最大溶解（Triton-Xの添加）と自然溶解（エフェクター細胞なし）の差に対する上清中に放出されたクロムの相対値として決定した。すべての測定を4連で行った。上清中のクロム活性の測定は、Wizard 3'' カウンター（Perkin Elmer Life Sciences GmbH, Koln, Germany）において行った。結果の分析は、Windows版Prism 5（バージョン5.0、GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA）を用いて行った。分析プログラムによってシグモイド用量応答曲線から計算されたEC50値を、細胞毒性活性の比較に使用した（図E5を参照のこと）。

【 0 4 5 6 】

8.2 ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対して刺激されたヒトエフェクターT細胞をリダイレクトする効力

BCMA/CD3 二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞としてヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞を、およびエフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞を用いた、51クロム（⁵¹Cr）放出細胞毒性アッセイにおいて分析した。この実験は、実施例8.1に記載されるようにして行った。

【 0 4 5 7 】

エピトープクラスターE3のBCMA/CD3 二重特異性抗体はすべて、ヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対して1桁台のpg/ml範囲またはさらにそれ未満のEC50値の非常に強力な細胞毒性活性を示した（図E9および表5）。このようにエピトープクラスターE3は、非常に

20

30

30

40

50

強力な二重特異性抗体媒介細胞毒性活性を支える非常に好ましいエピトープ・活性関係 (epitope-activity relationship) を提供する。

【0458】

(表5) 標的細胞としてヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞を、およびエフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞を用いた、51クロム (^{51}Cr) 放出細胞毒性アッセイにおいて分析された、エピトープクラスターE3のBCMA/CD3 二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|-------------------------|---------------------|-------------|
| BCMA-83 | 0.38 | 0.79 |
| BCMA-98 | 0.27 | 0.85 |
| BCMA-71 | 3.2 | 0.85 |
| BCMA-34 | 3.4 | 0.81 |
| BCMA-74 | 0.73 | 0.80 |
| BCMA-20 | 0.83 | 0.82 |

【0459】

8.3 未刺激のヒトPBMCを用いたFACSベースの細胞毒性アッセイ

エフェクター細胞の単離

ヒト末梢血単核細胞 (PBMC) を、血液バンクが輸血のために回収した血液の副産物である濃縮リンパ球調製物 (軟膜) からFicoll密度勾配遠心分離によって調製した。軟膜は、国内の血液バンクによって提供され、PBMCを、血液回収と同日に調製した。Ficoll密度遠心分離およびDulbecco PBS (Gibco) による十分な洗浄の後、残った赤血球を、赤血球溶解緩衝液 (155mM NH₄Cl、10mM KHCO₃、100 μM EDTA) とのインキュベーションを通じてPBMCから除去した。血小板は、PBMCの100 × gでの遠心分離により上清を通じて除去した。残ったリンパ球は、主としてBおよびTリンパ球、NK細胞および単球を含んでいる。PBMCを、10% FCS (Gibco) を含むRPMI培地 (Gibco) 中、37 /5% CO₂下の培養により維持した。

【0460】

CD14⁺ およびCD56⁺細胞の枯渴

CD14⁺細胞を枯渴させるために、ヒトCD14マイクロビーズ (Milteny Biotec、MACS、#130-050-201) を使用し、NK細胞を枯渴させるために、ヒトCD56マイクロビーズ (MACS、#130-050-401) を使用した。PBMCをカウントし、室温で10分間、300 × gで遠心分離した。上清を廃棄し、細胞ペレットをMACS単離緩衝液 [80 μL/10⁷ 細胞 ; PBS (Invitrogen、#20012-043)、0.5% (v/v) FBS (Gibco、#10270-106)、2mM EDTA (Sigma-Aldrich、#E-6511)] に再懸濁した。CD14マイクロビーズおよびCD56マイクロビーズ (20 μL/10⁷ 細胞) を添加し、4 ~ 8 ℃で15分間インキュベートした。細胞をMACS単離緩衝液 (1 ~ 2mL/10⁷ 細胞) で洗浄した。遠心分離後 (上記を参照のこと)、上清を廃棄し、細胞をMACS単離緩衝液 (500 μL/10⁸ 細胞) に再懸濁した。次に、CD14/CD56陰性細胞を、LSカラム (Miltenyi Biotec、#130-042-401) を用いて単離した。CD14+/CD56+細胞を含まないPBMCを、必要となるまで、37 ℃のインキュベーターにおいて、RPMI完全培地、すなわち10% FBS (Biochrom AG、#S0115)、1 x 非必須アミノ酸 (Biochrom AG、#K0293)、10mM Hepes緩衝液 (Biochrom AG、#L1613)、1mMピルビン酸ナトリウム (Biochrom AG、#L0473) および100 U/mLペニシリン / ストレプトマイシン (Biochrom AG、#A2213) を補充したRPMI1640 (Biochrom AG、#FG1215) 中で培養した。

【0461】

標的細胞の標識

フローサイトメトリーアッセイにおける細胞溶解の分析のために、蛍光膜色素DiOC₁₈ (DiO) (Molecular Probes、#V22886) を使用して、標的細胞としてのヒトBCMAまたはマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞を標識し、それらをエフェクター細胞から区別できるよ

10

20

30

40

50

うにした。簡潔に説明すると、細胞を収集し、PBSで1回洗浄し、そして2% (v/v) FBSおよび膜色素DiO (5 µL/10⁶細胞) を含むPBSで10⁶細胞/mLに調節した。37℃で3分間のインキュベートの後、細胞を完全RPMI培地で2回洗浄し、そして細胞数を1.25 × 10⁵細胞/mLに調節した。細胞の生存性を、0.5% (v/v) 等張性EosinG溶液 (Roth, #45380) を用いて決定した。

【0462】

フローサイトメトリーベースの分析

このアッセイは、BCMA二重特異性抗体の連続希釈物の存在下でのマカクまたはヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞の溶解を定量するよう設計した。

等量のDiO標識標的細胞およびエフェクター細胞（すなわち、CD14⁺細胞を含まないPBMC）を混合し、E:T細胞比を10:1にした。この懸濁物160 µLを96ウェルプレートの各ウェルに移した。40 µLの、BCMA二重特異性抗体の連続希釈物および陰性対照二重特異性抗体（無関係の標的抗原を認識するCD3ベースの二重特異性抗体）または追加の陰性対照としてのRPMI完全培地を添加した。二重特異性抗体によって媒介される細胞毒性反応は、7% CO₂加湿インキュベーター内で48時間進行させた。次いで、細胞を新しい96ウェルプレートに移し、標的細胞の膜完全性の喪失を、最終濃度1 µg/mLのヨウ化プロピジウム (PI) の添加によってモニタリングした。PIは、通常生きた細胞から排除される膜不透過性の色素であるが、死滅した細胞はそれを取り込み、蛍光放射によって同定可能になる。

試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した（両方ともBecton Dickinson製）。

標的細胞を、DiO陽性細胞として同定した。PI陰性標的細胞を、生きている標的細胞に分類した。細胞毒性の百分率は、次式にしたがって計算した。

$$\text{細胞毒性 [%]} = \frac{n_{\text{死滅した標的細胞}}}{n_{\text{標的細胞}}} \times 100$$

n = 事象数

GraphPad Prism 5ソフトウェア (Graph Pad Software, San Diego) を使用して、細胞毒性の百分率を、対応する二重特異性抗体の濃度に対してプロットした。用量応答曲線は、一定のヒル勾配のシグモイド用量応答曲線の評価のための4パラメータロジスティック回帰モデルを用いて分析し、EC50値を計算した。

【0463】

8.4 ヒトBCMAトランスフェクト標的細胞に対する未刺激のヒトPBMC

BCMA/CD3 二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞としてヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞を、およびエフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて分析した。このアッセイを上記のように行なった（実施例8.3）。

【0464】

エフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを、および標的としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞を用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイの結果が図E10および表6に示されている。

【0465】

(表6) エフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを、および標的細胞としてヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE3のBCMA/CD3 二重特異性抗体のEC50値 [pg/mL]

10

20

30

40

| BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|-------------------------|---------------------|-------------|
| BCMA-83 | 212 | 0.97 |
| BCMA-7 | 102 | 0.97 |
| BCMA-5 | 58.4 | 0.94 |
| BCMA-98 | 53.4 | 0.95 |
| BCMA-71 | 208 | 0.94 |
| BCMA-34 | 149 | 0.94 |
| BCMA-74 | 125 | 0.97 |
| BCMA-20 | 176 | 0.98 |

【 0 4 6 6 】**実施例E9****9.1 BAFF受容体との交差反応の排除**

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 µg/mlの濃度の精製された二重特異性抗体50 µlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞を、2% FCSを含むPBSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体 (Qiagen; 2% FCSを含む50 µlのPBSで1:20希釈) で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、2% FCSを含むPBSで1:100希釈された、フィコエリトリリンにコンジュゲートされたFc特異的抗体 (Dianova) で検出した。試料をFACSCanto II機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACS Divaソフトウェアによって分析した (両方ともBecton Dickinson製)。二重特異性結合体は、BAFF受容体と交差反応性でないことを示した。

【 0 4 6 7 】**9.2 ヒトBAFF受容体 (BAFF-R) およびTACIと交差反応するBCMA/CD3 二重特異性抗体の排除**

ヒトBAFF-RおよびTACIへの結合の排除のために、BCMA/CD3 二重特異性抗体を、ヒトBAFF-RおよびTACIのそれぞれでトランスフェクトされたCHO細胞を用いたフローサイトメトリーによって試験した。さらに、L363多発性骨髄腫細胞を、ヒトBCMAへの結合の陽性対照として使用した。CHO細胞におけるBAFF-RおよびTACI抗原の発現を、2つの陽性対照抗体によって確認した。フローサイトメトリーは、上記実施例に記載されたようにして行った。

【 0 4 6 8 】

フローサイトメトリー分析により、エピトープクラスターE3のBCMA/CD3 二重特異性抗体のいずれもがヒトBAFF-RまたはヒトTACIと交差反応しないことが確認された (図E11を参照のこと)。

【 0 4 6 9 】**実施例E10****細胞毒性活性**

エフェクターT細胞をBCMA発現標的細胞に対してリダイレクトするヒト様BCMA 二重特異性抗体の効力を、5つの追加のインビトロ細胞毒性アッセイにおいて分析する：

1. 刺激されたヒトエフェクターT細胞をBCMA陽性 (ヒト) 腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA 二重特異性抗体の効力を、51クロム放出アッセイにおいて測定する。
2. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトするBCMA 二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
3. 未刺激のヒトPBMC中のT細胞をBCMA陽性 (ヒト) 腫瘍細胞株に対してリダイレクトするBCMA 二重特異性抗体の効力を、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて測定する。
4. 交差反応性のBCMA 二重特異性抗体がマカクT細胞をマカクBCMAトランスフェクトCHO細胞に対してリダイレクトできることを確認するため、エフェクターT細胞としてマカクT細胞株を用いてFACSベースの細胞毒性アッセイを行う。

10

20

30

40

50

5. 単量体形態および2量体形態のBCMA 二重特異性抗体の間の効力ギャップを、標的細胞としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞を、およびエフェクター細胞として刺激されたヒトT細胞を用いる、51クロム放出アッセイにおいて決定する。

【 0 4 7 0 】

実施例E11

BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363に対する刺激されたヒトT細胞

BCMA/CD3 二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞源としてBCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363 (DSMZ No.ACC49) を、およびエフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞を用いた、51クロム (^{51}Cr) 放出細胞毒性アッセイにおいて分析した。アッセイは、実施例8.1に記載されるようにして行った。

10

【 0 4 7 1 】

エフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 Tリンパ球および標的としてヒトBCMAトランスフェクトCHO細胞を用いた51クロム放出アッセイの結果によれば、エピトープクラスターE3のBCMA/CD3 二重特異性抗体は、細胞毒性活性が非常に強力である（図E12および表7）。

【 0 4 7 2 】

エピトープクラスタリング（実施例1および3を参照のこと）の中で、BCMAのエピトープクラスター1および4（「E1/E4」）に結合できる別の抗体グループを同定した。予想外なことに、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3 二重特異性抗体は、ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対する細胞毒性活性に関しては強力であったが、細胞表面上にネイティブBCMAを低密度で発現するヒト多発性骨髄腫細胞株L363に対してはずっと弱い細胞毒性を示した（図E12および表7）。学説による制約を望まないが、本発明者らは、ヒトBCMAのE1/E4エピトープは、BCMAトランスフェクト細胞よりもBCMA自然発現体においてアクセス性が良くないのではないかと考えている。

20

【 0 4 7 3 】

（表7）標的細胞源としてBCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363を、およびエフェクター細胞として刺激され濃縮されたヒトCD8 T細胞を用いた、18時間51クロム (^{51}Cr) 放出細胞毒性アッセイにおいて分析されたエピトープクラスターE1/E4（第1列および第2列）ならびにE3（第3～8列）のBCMA/CD3 二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

| | BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|---|-------------------------|---------------------|-------------|
| 1 | BCMA-54 | 685 | 0.84 |
| 2 | BCMA-53 | 1107 | 0.82 |
| 3 | BCMA-83 | 28 | 0.83 |
| 4 | BCMA-98 | 10 | 0.81 |
| 5 | BCMA-71 | 125 | 0.86 |
| 6 | BCMA-34 | 42 | 0.81 |
| 7 | BCMA-74 | 73 | 0.79 |
| 8 | BCMA-20 | 21 | 0.85 |

30

【 0 4 7 4 】

実施例E12

BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363に対する未刺激のヒトPBMC

BCMA/CD3 二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞源として、すべての試験した標的T細胞株の中で最も弱いネイティブBCMAの表面発現を示した、BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株L363 (DSMZ、ACC49) を、およびエフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいてさらに分析した。アッセイは、上記（実施例8.3）のように行った。

40

【 0 4 7 5 】

50

刺激され濃縮されたヒトCD8 Tリンパ球をヒト多発性骨髄腫細胞株L363に対して用いた51クロム放出アッセイにおいて観察されたように、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3二重特異性抗体は、ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対するそれらの強力な細胞毒性活性とは対照的に、ここでも、細胞表面上にネイティブBCMAを低密度で発現するヒト多発性骨髄腫細胞株L363への未刺激のPBMCの細胞毒性活性のリダイレクトに関して弱い効力を示した。これは、上記の学説、すなわち、ヒトBCMAのE1/E4エピトープはBCMAトランスフェクト細胞よりもBCMA自然発現体においてアクセス性が良くないと考えられること、と符合する。エピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体は、このアッセイにおいて3桁台のpg/mlのEC50値を示した（図E13および表8を参照のこと）。

【0476】

10

（表8）エフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを、および標的細胞源としてヒト多発性骨髄腫細胞株L363を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE1/E4（第1列および第2列）ならびにE3（第3～8列）のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

| | BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|---|-------------------------|---------------------|-------------|
| 1 | BCMA-54 | 3162 | 0.99 |
| 2 | BCMA-53 | 2284 | 0.98 |
| 3 | BCMA-83 | 241 | 0.99 |
| 4 | BCMA-98 | 311 | 0.99 |
| 5 | BCMA-71 | 284 | 0.99 |
| 6 | BCMA-34 | 194 | 0.99 |
| 7 | BCMA-74 | 185 | 0.99 |
| 8 | BCMA-20 | 191 | 0.99 |

【0477】

予想通り、EC50値は、エフェクター細胞として未刺激のPBMCを用いた細胞毒性アッセイにおいて、濃縮され刺激されたヒトCD8 T細胞を用いた細胞毒性アッセイにおけるよりも高くなった。

30

【0478】

実施例E13

BCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929に対する未刺激のヒトPBMC

BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞源としてBCMA陽性ヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929（ATCC CRL-9068）を、およびエフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて分析した。アッセイは、上記（実施例8.3）のように行つた。

【0479】

この、細胞表面上にネイティブBCMAを発現する別のヒト多発性骨髄腫細胞株（すなわち、NCI-H929）を用いたアッセイの結果は、ヒト多発性骨髄腫細胞株L363を用いて得られた結果を確認するものである。ここでも、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3二重特異性抗体は、ヒトBCMAでトランスフェクトされたCHO細胞に対するそれらの強力な細胞毒性活性とは対照的に、ヒト多発性骨髄腫細胞への未刺激のPBMCの細胞毒性活性のリダイレクトに関して低い効力を示し、ヒトBCMAのE1/E4エピトープはBCMAトランスフェクト細胞よりもBCMA自然発現体においてアクセス性が良くないとのではないかという学説が確認された。E1/E4結合体で見られたような、BCMAトランスフェクト標的細胞と自然発現体の間のそのような活性のギャップは、E3では見られなかった。エピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体は、2～3桁台のpg/mlのEC50値を示し、したがってNCI-H929標的細胞に対して未刺激のPBMCを非常に良いEC50値でリダイレクトした（図E14および表9を参照のこと）。

40

50

【0480】

(表9) エフェクター細胞として未刺激のヒトPBMCを、および標的細胞源としてヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE1/E4(第1列および第2列)ならびにE3(第3~8列)のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

| | BCMA/CD3二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|---|------------------------|---------------------|-------------|
| 1 | BCMA-54 | 2604 | 0.99 |
| 2 | BCMA-53 | 2474 | 0.99 |
| 3 | BCMA-83 | 154 | 0.93 |
| 4 | BCMA-98 | 67.6 | 0.87 |
| 5 | BCMA-71 | 50.7 | 0.96 |
| 6 | BCMA-34 | 227 | 0.99 |
| 7 | BCMA-74 | 103 | 0.97 |
| 8 | BCMA-20 | 123 | 0.97 |

【0481】

予想通り、EC50値は、L363と比較して、細胞表面上に高レベルのBCMAを発現するヒト多発性骨髄腫細胞株NCI-H929において高くなった。

【0482】

実施例E14

マカクBCMA発現標的細胞に対するマカクT細胞

最後に、BCMA/CD3二重特異性抗体の細胞毒性活性を、標的細胞としてマカクBCMAでトランسفェクトされたCHO細胞を、およびエフェクター細胞源としてマカクT細胞株を用いた、FACSベースの細胞毒性アッセイにおいて分析した。

【0483】

マカクT細胞株4119LnPx (Knappe et al. Blood 95: 3256-61 (2000))を、エフェクター細胞源として使用した。マカクBCMAトランسفェクトCHO細胞の標的細胞標識および細胞毒性活性のフローサイトメトリーベースの分析を、上記のように行った。

【0484】

細胞株4119LnPx由来のマカクT細胞は、E3エピトープクラスターのBCMA/CD3二重特異性抗体により、マカクBCMAトランسفェクトCHO細胞を効果的に死滅させるよう誘導された。この抗体は、このアッセイにおいて、1桁台~低い値の2桁台のpg/mlのEC50値の非常に強い効力を示し、これらの抗体がマカク系内で非常に高い活性であることが確認された。他方、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3二重特異性抗体は、2桁~3桁台のpg/ml範囲のEC50値の有意に弱い効力を示した(図E15および表10を参照のこと)。したがってE3特異的抗体は、マカク系において、効力が約3倍~100倍近く高い。

【0485】

(表10) エフェクター細胞としてマカクT細胞株4119LnPxを、および標的細胞としてマカクBCMAでトランسفェクトされたCHO細胞を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE1/E4(第1列および第2列)ならびにE3(第3~8列)のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [pg/ml]

10

20

30

40

| | BCMA/CD3 二重特異性抗体 | EC50 [pg/ml] | R二乗値 |
|---|-------------------------|---------------------|-------------|
| 1 | BCMA-54 | 78.5 | 0.98 |
| 2 | BCMA-53 | 183 | 0.96 |
| 3 | BCMA-83 | 10.9 | 0.97 |
| 4 | BCMA-98 | 2.5 | 0.89 |
| 5 | BCMA-71 | 3.2 | 0.97 |
| 6 | BCMA-34 | 2.1 | 0.95 |
| 7 | BCMA-74 | 2.0 | 0.95 |
| 8 | BCMA-20 | 26 | 0.98 |

【 0 4 8 6 】

実施例E15

BCMA/CD3 二重特異性抗体の単量体と2量体の間の効力ギャップ

個々のBCMA/CD3 二重特異性抗体の単量体と2量体のアイソフォーム間の細胞毒性活性の差（これを効力ギャップと称する）を決定するために、上記（実施例8.1）のような51クロム放出細胞毒性アッセイを、精製されたBCMA/CD3 二重特異性抗体の単量体および2量体を用いて行った。効力ギャップは、二重特異性抗体の単量体と2量体のEC50値の間の比として計算した。試験したエピトープクラスターE3のBCMA/CD3 二重特異性抗体の効力ギャップは、0.03～1.2の間であった。したがって2量体がそのそれぞれの単量体と比較して有意に高い活性であるということはない。

【 0 4 8 7 】

実施例E16

3回の凍結／解凍サイクル後の単量体から2量体への変換

二重特異性BCMA/CD3抗体の単量体を3回の凍結／解凍サイクルに供し、その後に高速SECを行って、抗体の2量体に変換された当初単量体であった抗体の百分率を決定した。

【 0 4 8 8 】

15 μgの単量体抗体を一般緩衝液で250 μg/mlの濃度に調節し、次いで-80 °Cで30分間凍結し、その後に室温で30分間解凍した。3回の凍結／解凍サイクルの後、2量体含有量をHP-SECによって決定した。この目的で、抗体の単量体アイソフォームの15 μgのアリコートを解凍し、初期SEC緩衝液（10mMクエン酸 - 75mMリジンHCl - 4%トレハロース - pH7.2）中250 μg/mlの濃度にし、その後に37 °Cで7日間インキュベートした。高分解能SECカラム TSK Gel G3000 SWXL (Tosoh, Tokyo-Japan) を、A905オートサンプラーを搭載したAkt a Purifier 10 FPLC (GE Lifesciences) に接続した。カラム平衡化・泳動緩衝液は、pH6.6に調節した100mM KH2PO4 - 200mM Na2SO4からなるものであった。7日間のインキュベートの後、抗体溶液（15 μgタンパク質）を平衡化したカラムに適用し、流速0.75ml/分、最大圧7MPaで溶出を行った。泳動全体を280、254および210nmの光吸収によりモニタリングした。分析は、Akta Unicornソフトウェアの泳動評価シートに記録された210nmシグナルのピーク積分によって行った。2量体含有量は、2量体ピークの面積を単量体と2量体ピークの総面積で割り算することによって計算した。

【 0 4 8 9 】

エピトープクラスターE3のBCMA/CD3 二重特異性抗体は、3回の凍結／解凍サイクルの後に0.7～1.1%の2量体率を示し、これは良好であるとみなされる。しかし、エピトープクラスターE1/E4のBCMA/CD3 二重特異性抗体の2量体変換率は、好ましくないほど高い値に達し、不都合な2量体値の閾値である 2.5%を超過した（それぞれ、4.7%および3.8%）、表11を参照のこと。

【 0 4 9 0 】

（表11）高速サイズ排除クロマトグラフィー（HP-SEC）によって決定された、3回の凍結／解凍サイクル後のエピトープクラスターE1/E4（第1列および第2列）ならびにE3（

10

20

30

40

50

第3～8列)のBCMA/CD3二重特異性抗体の単量体 対 2量体の百分率

| | BCMA/CD3二重特異性抗体 | 単量体[%] | 2量体[%] |
|---|------------------------|---------------|---------------|
| 1 | BCMA-54 | 95.3 | 4.7 |
| 2 | BCMA-53 | 96.2 | 3.8 |
| 3 | BCMA-83 | 99.1 | 0.9 |
| 4 | BCMA-98 | 99.1 | 0.9 |
| 5 | BCMA-71 | 99.1 | 0.9 |
| 6 | BCMA-34 | 98.9 | 1.1 |
| 7 | BCMA-74 | 99.3 | 0.7 |
| 8 | BCMA-20 | 99.2 | 0.8 |

【0491】

実施例E17

熱安定性

BCMA/CD3二重特異性抗体に固有の生物物理学的タンパク質安定性を決定するため、融解温度曲線を示差走査熱量測定(DSC)により決定した。これらの実験は、MicroCal LLC(Northampton, MA, U.S.A) VP-DSCデバイスを用いて行った。BCMA/CD3二重特異性抗体を含む試料のエネルギー取り込みを、抗体の処方緩衝液のみを含む試料との比較で、20から90まで記録した。

【0492】

詳述すると、BCMA/CD3二重特異性抗体を、保存緩衝液で終濃度250 μg/mlに調節した。調製したタンパク質溶液300 μlを深底ウェルプレートに移し、DSCデバイスの冷却オートサンプラー位置に設置した。追加のウェルを、測定参照物質としてのSEC泳動緩衝液で満たした。測定プロセスにおいて、タンパク質溶液は、オートサンプラーによってキャピラリーに移された。追加のキャピラリーを、参照としてのSEC泳動緩衝液で満たした。すべての試料について、加熱および両方のキャピラリーを20～90の範囲の等しい温度に過熱するのに必要とされる熱エネルギーの記録を行った。

【0493】

それぞれの融解曲線の記録のために、試料の全体温度を段階的に上昇させた。各温度Tで、試料および処方緩衝液参考のエネルギー取り込みを記録した。試料から参照を差し引いたエネルギー取り込みCp(kcal/mole/)の差を、それぞれの温度に対してプロットした。融解温度は、エネルギー取り込みが最初に最大となる温度と定義される。

【0494】

すべての試験されたエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体は、60を超える、より正確には61.62～63.05の間の融解温度の良好な熱安定性を示した。

【0495】

実施例E18

フローサイトメトリーによる血漿の干渉の排除

BCMA/CD3二重特異性抗体とヒト血漿タンパク質の潜在的な相互作用を決定するため、血漿干渉試験を構築した。この目的で、10 μg/mlのそれぞれのBCMA/CD3二重特異性抗体を、37で1時間、90%ヒト血漿中でインキュベートした。その後に、ヒトBCMA発現CHO細胞に対する結合をフローサイトメトリーによって決定した。

【0496】

フローサイトメトリーのために、それぞれの細胞株200,000細胞を5 μg/mlの濃度の精製された抗体50 μlと共に氷上で30分間インキュベートした。細胞をPBS/2% FCSで2回洗浄し、構築物の結合をマウスPentaHis抗体(Qiagen; 50 μlのPBS/2% FCSで1:20希釈)で検出した。洗浄後、結合したPentaHis抗体を、PBS/2% FCSで1:100希釈された、フィコエリトリンにコンジュゲートされたFc特異的抗体(Dianova)で検出した。試料をFACSCanto I

10

20

30

40

50

I機器におけるフローサイトメトリーによって測定し、FACSDivaソフトウェアによって分析した（両方ともBecton Dickinson製）。

【0497】

得られたデータを、ヒト血漿の代わりにPBSを用いた対照アッセイと比較した。相対結合を、以下のように計算した：

(PBS試料のシグナル / 検出試薬なしのシグナル) / (血漿試料のシグナル / 検出試薬なしのシグナル)。

【0498】

この実験では、血漿タンパク質によって媒介されるエピトープクラスターE3のそれぞれのBCMA/CD3二重特異性抗体の標的結合の有意な減少が起こらないことが明らかになった。相対血漿干渉値は全ての場合において値2を下回り、より正確には $1.29 \pm 0.25 \sim 1.70 \pm 0.26$ の間であった（値「2」を干渉シグナルの下側閾値とみなした）。

10

【0499】

実施例E19

ヒト腫瘍異種移植モデルにおけるBCMA/CD3二重特異性抗体の治療効能

研究第1日目に、 5×10^6 細胞のヒト癌細胞株NCI-H929を、メスNOD/SCIDマウスの右背側面に皮下注射した。

平均腫瘍容積が約 100mm^3 に達した第9日目に、インビトロで展開させたヒトCD3⁺T細胞を、この動物の腹腔への約 2×10^7 細胞の注射によりマウスに移植した。ビヒクル対照グループ1 (n=5) のマウスにはエフェクター細胞を与えず、腫瘍成長に対するT細胞単独の影響をモニタリングするためのビヒクル対照グループ2 (n=10、エフェクター細胞を与えた)と共に比較のための未移植対照として使用した。

20

【0500】

抗体処置は、平均腫瘍容積が約 200mm^3 に達した第13日目に開始した。処置開始日における各処置グループの平均腫瘍サイズは、任意の他のグループと統計的に相違しなかった（分散分析）。マウスを、 0.5 mg/kg/日 のBCMA/CD3二重特異性抗体BCMA-98 x CD3（グループ3、n=7）またはBCMA-34 x CD3（グループ4、n=6）を用いて、17日間の静脈内ボーラス注射により処置した。

【0501】

研究中、腫瘍はカリパスによって測定し、進行は腫瘍容積 (TV) のグループ間比較によって評価した。腫瘍成長阻害T/C [%]は、 $T/C\% = 100 \times (\text{分析グループのTV中央値}) / (\text{対照グループ2のTV中央値})$ としてTVを計算することによって決定した。結果が表12および図E16に示されている。

30

【0502】

（表12）第13～30日目の腫瘍容積 (TV) の中央値および腫瘍成長阻害 (T/C)

| 投薬量 グループ | データ | d13 | d14 | d15 | d16 | d18 | d19 | d21 | d23 | d26 | d28 | d30 |
|--|-----------------------------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 T細胞を 含まない ビヒクル 対照 | TV中央値 [mm ³] | 238 | 288 | 395 | 425 | 543 | 632 | 863 | 1067 | 1116 | 1396 | 2023 |
| | T/C [%] | 120 | 123 | 127 | 118 | 104 | 114 | 122 | 113 | 87 | 85 | 110 |
| 2 ビヒクル 対照 | TV中央値 [mm ³] | 198 | 235 | 310 | 361 | 525 | 553 | 706 | 942 | 1290 | 1636 | 1839 |
| | T/C [%] | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 3 BCMA- 98 | TV中央値 [mm ³] | 207 | 243 | 248 | 235 | 164 | 137 | 93.5 | 46.2 | 21.2 | 0.0 | 0.0 |
| | T/C [%] | 105 | 104 | 79.7 | 65.0 | 31.2 | 24.7 | 13.2 | 4.9 | 1.6 | 0.0 | 0.0 |
| 4 BCMA- 34 | TV中央値 [mm ³] | 206 | 233 | 212 | 189 | 154 | 119 | 56.5 | 17.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| | T/C [%] | 104 | 99.2 | 68.2 | 52.3 | 29.4 | 21.5 | 8.0 | 1.8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

【0503】

実施例E20

標的陰性細胞の溶解の排除

インピトロ溶解アッセイを、エフェクター 対 標的細胞比5:1のBCMA陽性ヒト多発性骨髓腫細胞株NCI-H929および精製されたT細胞を用いて、24時間のインキュベート時間で行った。エピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体（BCMA-34およびBCMA-98）は、NCI-H929の溶解に関して高い効力および効能を示した。しかし、BCMA陰性細胞株HL60（AML / 骨髄芽球形態）、MES-SA（子宮肉腫、線維芽細胞形態）およびSNU-16（胃癌、上皮形態）では、最大500nMの各抗体で溶解が検出されなかった。

【0504】

実施例E21

異なるPBMCサブセットのT細胞活性化の誘導

FACSベースの細胞毒性アッセイ(48h; E:T = 10:1)を、標的細胞としてヒト多発性骨髓腫細胞株NCI-H929、L-363およびOPM-2を、ならびにエフェクター細胞としてヒトPBMCの異なるサブセット(CD4⁺/CD8⁺/CD25⁺/CD69⁺)を用いて行った。結果(表13を参照のこと)は、EC₅₀値によって測定された活性化の程度が、分析された異なるPBMCサブセットで本質的に同じ範囲内であることを示している。

【0505】

(表13)エフェクター細胞としてヒトPBMCの異なるサブセットを、および標的細胞として異なるヒト多発性骨髓腫細胞株を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイにおいて測定されたエピトープクラスターE3のBCMA/CD3二重特異性抗体のEC50値 [ng/ml]

10

20

30

40

| | | EC ₅₀ [ng/ml] | |
|----------|--------------------------------------|--------------------------|---------------|
| 細胞株 | PBMC | BCMA-98 x CD3 | BCMA-34 x CD3 |
| NCI-H929 | CD4 ⁺ / CD25 ⁺ | 1.46 | 1.20 |
| | CD8 ⁺ / CD25 ⁺ | 0.53 | 0.49 |
| | CD4 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.59 | 0.47 |
| | CD8 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.21 | 0.21 |
| OPM-2 | CD4 ⁺ / CD25 ⁺ | 2.52 | 4.88 |
| | CD8 ⁺ / CD25 ⁺ | 1.00 | 1.20 |
| | CD4 ⁺ / CD69 ⁺ | 1.65 | 2.27 |
| | CD8 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.48 | 0.42 |
| L-363 | CD4 ⁺ / CD25 ⁺ | 0.54 | 0.62 |
| | CD8 ⁺ / CD25 ⁺ | 0.24 | 0.28 |
| | CD4 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.35 | 0.34 |
| | CD8 ⁺ / CD69 ⁺ | 0.12 | 0.11 |

【 0 5 0 6 】

実施例E22

サイトカイン放出の誘導

FACSベースの細胞毒性アッセイ (48h; E:T = 10:1) を、標的細胞としてヒト多発性骨髓腫細胞株NCI-H929、L-363およびOPM-2を、ならびにエフェクター細胞としてヒトPBMCを用いて行った。サイトカイン放出のレベル [pg/ml] を、漸増濃度のエピトープクラスター-E3のBCMA/CD3 二重特異性抗体の下で決定した。以下のサイトカインを分析した：IL-2、IL-6、IL-10、TNFおよびIFN- γ 。結果が表14および図E17に示されている。

【 0 5 0 7 】

(表14) エフェクター細胞としてヒトPBMCを、および標的細胞として異なるヒト多発性骨髓腫細胞株を用いた、48時間FACSベース細胞毒性アッセイ (E:T = 10:1) において2.5 μ g/mlのエピトープクラスター-E3のBCMA/CD3 二重特異性抗体 (BCMA-98およびBCMA-34) によって誘導されたIL-2、IL-6、IL-10、TNFおよびIFN- γ の放出 [pg/ml]

10

20

30

| | サイトカインレベル [pg/ml] | | | | |
|---------|-------------------|------|-------|-------|---------------|
| | NCI-H929 | | | | |
| | IL-2 | IL-6 | IL-10 | TNF | IFN- γ |
| BCMA-98 | 1357 | 699 | 2798 | 10828 | 73910 |
| BCMA-34 | 1327 | 631 | 3439 | 6675 | 77042 |
| | OPM-2 | | | | |
| | IL-2 | IL-6 | IL-10 | TNF | IFN- γ |
| | 41 | 118 | 990 | 5793 | 33302 |
| BCMA-98 | 28 | 109 | 801 | 4913 | 23214 |
| | L-363 | | | | |
| | IL-2 | IL-6 | IL-10 | TNF | IFN- γ |
| | 97 | 314 | 2433 | 5397 | 64981 |
| BCMA-34 | 168 | 347 | 2080 | 5930 | 75681 |

【 0 5 0 8 】

| SEQ ID NO | 名称 | 名称 / 供給源 | 形式 / タイプ | 配列 |
|-----------|--------------------|------------------------------|----------|---|
| 1 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | VH CDR1 | aa NYDMA |
| 2 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | VH CDR2 | aa SIITSGDATYYRDSVKG |
| 3 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | VH CDR3 | aa HDYYDGSYGFAY |
| 4 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | VL CDR1 | aa KASQSVGINVD |
| 5 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | VL CDR2 | aa GASNRHT |
| 6 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | VL CDR3 | aa LQYGSIPFT |
| 7 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | VH | aa QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGRTTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWGQGTIVTQAPKPGQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGS |
| 8 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | VL | aa EIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGSGREFLTISLQSEDFAVYYCQLQYGSIPFTFGPGTKVDIK |
| 9 | BCMA-1 | BC 5G9 91-C7-B10 | scFv | aa QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGRTTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWGQGTIVTQAPKPGQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGSGREFLTISLQSEDFAVYYCQLQYGSIPFTFGPGTKVDIK |
| 10 | BCMA-1 HL x CD3 HL | BC 5G9 91-C7-B10 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGRTTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWGQGTIVTQAPKPGQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGSGREFLTISLQSEDFAVYYCQLQYGSIPFTFGPGTKVDIKNLKTEDTAVYYCVRHGNEGNSYIISYWAYWGQGTIVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLGKAALTLSGVQPEDDEAEYYCQLWYSNRWWFGGGTQLTVL |
| 11 | BCMA-2 | BC 5G9 91-C7-D8 | VH CDR1 | aa NYDMA |
| 12 | BCMA-2 | BC 5G9 91-C7-D8 | VH CDR2 | aa SIITSGDMTYYRDSVKG |

| | | | | | |
|-----------|-----------------------|------------------------------------|-------------|----|---|
| 13 | BCMA-2 | BC 5G9 91- C7-D8 | VH CDR3 | aa | HDYYDGSYGFAY |
| 14 | BCMA-2 | BC 5G9 91- C7-D8 | VL CDR1 | aa | KASQSVGINV |
| 15 | BCMA-2 | BC 5G9 91- C7-D8 | VL CDR2 | aa | GASN |
| 16 | BCMA-2 | BC 5G9 91- C7-D8 | VL CDR3 | aa | LQYGSIPFT |
| 17 | BCMA-2 | BC 5G9 91- C7-D8 | VH | aa | QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDMTYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCCVRLHDYYDGSSYGFAYWGQGTLYTV |
| 18 | BCMA-2 | BC 5G9 91- C7-D8 | VL | aa | EIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASN |
| 19 | BCMA-2 | BC 5G9 91- C7-D8 | scFv | aa | QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDMTYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCCVRLHDYYDGSSYGFAYWGQGTLYTVSSGGGGSGGGGG GSEIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASN |
| 20 | BCMA-2 HL x CD3 HL | BC 5G9 91- C7-D8 HL x CD3 HL | 二重特异性 分子 | aa | QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDMTYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCCVRLHDYYDGSSYGFAYWGQGTLYTVSSGGGGSGGGGG GSEIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASN |
| 21 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | VH CDR1 | aa | NYDMA |
| 22 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | VH CDR2 | aa | SITISGDATYRDSVK |
| 23 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | VH CDR3 | aa | HDYYDGSYGFAY |
| 24 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | VL CDR1 | aa | KASQSVGINV |
| 25 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | VL CDR2 | aa | GASN |
| 26 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | VL CDR3 | aa | LQYGSIPFT |

| | | | | | |
|----|-----------------------|-------------------------------------|-------------|----|--|
| | | E4-B10 | | | |
| 27 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | VH | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRSEDTAVYCYCVRHDYYDGSYGFAYWQGTLYTVSS |
| 28 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | VL | aa | EIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSUVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARFSGSGS GTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOYGSIPFTFGPGTKVDIK |
| 29 | BCMA-3 | BC 5G9 91- E4-B10 | scFv | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRSEDTAVYCYCVRHDYYDGSYGFAYWQGTLYTVSSGGGGGGGG GSEIIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSUVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARFSGSGS GSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOYGSIPFTFGPGTKVDIK |
| 30 | BCMA-3 HL x CD3 HL | BC 5G9 91- E4-B10 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRSEDTAVYCYCVRHDYYDGSYGFAYWQGTLYTVSSGGGGGGGGGG GSEIIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSUVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARFSGSGS GSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOYGSIPFTFGPGTKVDIK LSCAAAGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLYTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG PGGTVTLTCGSTSTGAVTSGNYPNWYQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSSLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVALWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 31 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | VH CDR1 | aa | NYDMA |
| 32 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | VH CDR2 | aa | SIITSGDMTYYRDSVKKG |
| 33 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | VH CDR3 | aa | HDYYDGSYGFAY |
| 34 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | VL CDR1 | aa | KASQSVGINVAD |
| 35 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | VL CDR2 | aa | GASNRTHT |
| 36 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | VL CDR3 | aa | LQYGSIPFT |
| 37 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | VH | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDMTYYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRSEDTAVYCYCVRHDYYDGSYGFAYWQGTLYTVSS |
| 38 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | VL | aa | EIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSUVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARFSGSGS GTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOYGSIPFTFGPGTKVDIK |
| 39 | BCMA-4 | BC 5G9 91- E4-D8 | scFv | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDMTYYRDSVKGR |

| | | | | |
|----|-----------------------|-------------------------------------|-------------------|---|
| | | E4-D8 | | GSEIIVMTQSPATLSSPGERVTLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARSGS GSCTEFTLTISLQSEDAVYYCLQYSIPFTFGPGTKVDIK |
| 40 | BCMA-4 HL x CD3 HL | BC 5G9 91- E4-D8 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 aa | QVQLVESGGVVQPGRSLLRSLCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASITITSGMDTYYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNLQSPATLSSPGERVTLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARSGS GSGTEFTLTISLQSEDAVYYCLQYSIPFTFGPGTKVDIK |
| 41 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | VH CDR1 aa | NYDMA |
| 42 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | VH CDR2 aa | SIITSGDATYYRDSVKG |
| 43 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | VH CDR3 aa | HDYYDGSYGFAY |
| 44 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | VL CDR1 aa | KASQSVGINV |
| 45 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | VL CDR2 aa | GASNRIHT |
| 46 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | VL CDR3 aa | LQYGSIPFT |
| 47 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | VH aa | QVQLVESGGVVQPGRSLLRSLCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASITITSGMDTYYRDSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNLQSPATLSSPGERVTLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARSGS GSGTEFTLTISLQSEDAVYYCLQYSIPFTFGPGTKVDIK |
| 48 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | VL aa | EIVMTQSPASMSVSPGERATLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARSGS GTEFTLTISLQSEDAVYYCLQYSIPFTFGPGTKVDIK |
| 49 | BCMA-5 | BC 5G9 91- D2-B10 | scFv aa | QVQLVESGGVVQPGRSLLRSLCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASITITSGMDTYYRDSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNLQSPATLSSPGERATLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARSGS GSGTEFTLTISLQSEDAVYYCLQYSIPFTFGPGTKVDIK |
| 50 | BCMA-5 HL x CD3 HL | BC 5G9 91- D2-B10 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 aa | QVQLVESGGVVQPGRSLLRSLCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASITITSGMDTYYRDSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNLQSPASMSVSPGERATLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLLIYGASNRRHTGIPARSGS GSGTEFTLTISLQSEDAVYYCLQYSIPFTFGPGTKVDIK |

| | | | | | |
|----|--------------------|------------------------------|---------|----|--|
| 62 | BCMA-7 | BC 5G9 92-E10-B10 | VH CDR2 | aa | SITSGDATYYRDSVKGR |
| 63 | BCMA-7 | BC 5G9 92-E10-B10 | VH CDR3 | aa | HDYYDGSYGFAY |
| 64 | BCMA-7 | BC 5G9 92-E10-B10 | VL CDR1 | aa | KASQSVGINVND |
| 65 | BCMA-7 | BC 5G9 92-E10-B10 | VL CDR2 | aa | GASNRT |
| 66 | BCMA-7 | BC 5G9 92-E10-B10 | VL CDR3 | aa | LQYSIPFT |
| 67 | BCMA-7 | BC 5G9 92-E10-B10 | VH | aa | QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGR FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGQTLVTVSSGGGGGGGGGG |
| 68 | BCMA-7 | BC 5G9 92-E10-B10 | VL | aa | EIVMTQSPTLSVSPGERATLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGSGS GTEFTLTISLQAEDFAVYYCLOYGSIPTFFGPGTKVDIK |
| 69 | BCMA-7 | BC 5G9 92-E10-B10 | scFv | aa | QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGR FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGQTLVTVSSGGGGGGGGGG GSEIVMTQSPTLSVSPGERATLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGS GSGTEFTLTISLQAEDFAVYYCLOYGSIPTFFGPGTKVDIK |
| 70 | BCMA-7 HL x CD3 HL | BC 5G9 92-E10B10 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDATYYRDSVKGR FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGQTLVTVSSGGGGGGGGGG GSEIVMTQSPTLSVSPGERATLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGS GSGTEFTLTISLQAEDFAVYYCLOYGSIPTFFGPGTKVDIK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWAVARI SKYNNYATYADSVKRDKRTTISRDDS SKNTAYLQMN NIKTEDDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLVTVSSGGGGGGSOQTVVTOEPSSLTVS PGGTIVTLLTGSSTGAVTSGNYPNWVQOKPGQAPRGLIGGTKFPLAPGTPARFSGSLLGKAALTLSGV QPEDEAEYYCIVLWYSNRWVEGGTKLTVL |
| 71 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | VH CDR1 | aa | NYDMA |
| 72 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | VH CDR2 | aa | SITSGDMTYYRDSVKGR |
| 73 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | VH CDR3 | aa | HDYYDGSYGFAY |
| 74 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | VL CDR1 | aa | KASQSVGINVND |
| 75 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | VL CDR2 | aa | GASNRT |

| | | | | | |
|-----------|--------------------|------------------------------|---------|----|---|
| | | E10-D8 | | | |
| 76 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | VL CDR3 | aa | LQYGSIPFT |
| 77 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | VH | aa | QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDMTYRDSVKGR FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYDGSSYGFAYWGQGTIVTVSS |
| 78 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | VL | aa | EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLIYGASNRTHTGIPARFSGSGS GTEFTLTISLQAEDFAVYYCLOQYSIPIFTFGPGTKVDIK |
| 79 | BCMA-8 | BC 5G9 92-E10-D8 | scFv | aa | QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDMTYRDSVKGR FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYDGSSYGFAYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGG GSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLIYGASNRTHTGIPARFSGS GGTIEFTLTISLQAEDFAVYYCLOQYSIPIFTFGPGTKVDIK |
| 80 | BCMA-8 HL x CD3 HL | BC 5G9 92-E10-D8 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGDMTYRDSVKGR FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYDGSSYGFAYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGG GSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVGINVWDYQQKPGQAPRLIYGASNRTHTGIPARFSGS GGTIEFTLTISLQAEDFAVYYCLOQYSIPIFTFGPGTKVDIK LSCAAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKIEDTAVYYCVRHGNEGNSYISYMAWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG PGGTVTLTCGSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLLGGKAALTLSGV QPEDAEYYCVCWLWSNRWVGGGTKLTVL |
| 81 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | VH CDR1 | aa | NYWIH |
| 82 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | VH CDR2 | aa | AIYPGNSDTHYNQKFQG |
| 83 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | VH CDR3 | aa | SSYYDGSLFAS |
| 84 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | VL CDR1 | aa | RSSQSIVHSNGNTYLY |
| 85 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | VL CDR2 | aa | RVSNRFS |
| 86 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | VL CDR3 | aa | FQGSTLPFT |
| 87 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVVKVSCKASGYTFTNYIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTHYNQKFQGR VTITRDTSASTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRSSYYDGSLFASWQGTIVTVSS |
| 88 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | VL | aa | DIVMTQTPLSLSVSPGQFASISCRSSQSTSIVHSNGNTYLYWYLQKPGQPQLLYRVSNRFSGVPDRF |

| | | | | |
|----|--------------------|----------------------------|---------|--|
| | | | | SGSSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQGSTLPFTFGQGTKEIK |
| 89 | BCMA-9 | BC H1 38-D2-A4 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNNSDTTHYNQKFQGK VTITRDT SASTAYMEISSLTSEDTA VYYCTR SYYDGS LFA SWGQ GTLVT VSSGGGSGGGGG GSDIVMTQTPLSLSVSPGPASI CRSSQSIVHSNGNTYLYWYQKPGQPQF QL LIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQGSTLPFTFGQGTKEIK |
| 90 | BCMA-9 HL x CD3 HL | BC H1 38-D2-A4 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNNSDTTHYNQKFQGK VTITRDT SASTAYMEISSLTSEDTA VYYCTR SYYDGS LFA SWGQ GTLVT VSSGGGSGGGGG GSDIVMTQTPLSLSVSPGPASI CRSSQSIVHSNGNTYLYWYQKPGQPQF QL LIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQGSTLPFTFGQGTKEIK |
| 91 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | VH CDR1 | aa NYWIH |
| 92 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | VH CDR2 | aa AIYPGNNSDTTHYNQKFQG |
| 93 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | VH CDR3 | aa SSYYDGS LFA S |
| 94 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | VL CDR1 | aa RSSQSIVIISNGNTYLY |
| 95 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | VL CDR2 | aa RVSNRF S |
| 96 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | VL CDR3 | aa FQGSHLPFT |
| 97 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | VL | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNNSDTTHYNQKFQGK VTITRDT SASTAYMEISSLTSEDTA VYYCTR SYYDGS LFA SWGQ GTLVT VSSGGGSGGGGG GSDIVMTQTPLSLSVSPGPASI CRSSQSIVHSNGNTYLYWYQKPGQPQF QL LIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQSHLPFTFGQGTKEIK |
| 98 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNNSDTTHYNQKFQGK VTITRDT SASTAYMEISSLTSEDTA VYYCTR SYYDGS LFA SWGQ GTLVT VSSGGGSGGGGG GSDIVMTQTPLSLSVSPGPASI CRSSQSIVHSNGNTYLYWYQKPGQPQF QL LIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQSHLPFTFGQGTKEIK |
| 99 | BCMA-10 | BC H1 38-D2-F12 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNNSDTTHYNQKFQGK VTITRDT SASTAYMEISSLTSEDTA VYYCTR SYYDGS LFA SWGQ GTLVT VSSGGGSGGGGG GSDIVMTQTPLSLSVSPGPASI CRSSQSIVHSNGNTYLYWYQKPGQPQF QL LIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQSHLPFTFGQGTKEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|--|
| 100 | BCMA-10 HL x CD3 HL | BC H1 38-D2-F12 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTHYNQKFQGKVTITRDTSASTAYMELSSLTSEDATAVYYCTRSSYYDGSILFASWQGTTLTVVSSGGGGGGGGGGGGSDDIVMTQTPLSLSVSPGQPASICSRSSQSIVHSNGNTYLYWYLOQKGQPPQQLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCFQGSHLPPFTFGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSILKLSCAAAGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDATAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVVSSGGGSGGGGSGQTVVVIQEP SLTVSPGGTVTLLTCGSSSTGAUTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLLGGKAAL |
| 101 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | VH CDR1 | aa | NYWIH |
| 102 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | VH CDR2 | aa | AIYPGNSDTHYNQKFQG |
| 103 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | VH CDR3 | aa | SSYYYDGSLFAS |
| 104 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | VL CDR1 | aa | KSSQSI VHNSNGNTYLY |
| 105 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | VL CDR2 | aa | RVSNRFS |
| 106 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | VL CDR3 | aa | FQGSTLPFT |
| 107 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTHYNQKFQGKVTITRDTSASTAYMELSSLTSEDATAVYYCTRSSYYDGSILFASWQGTTLTVVSSGGGGGGGGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQQASICSRSSQSIVHSNGNTYLYWYLOQKGQPPQQLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCFQGSTLPFTFGQGTKEIK |
| 108 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | VL | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTHYNQKFQGKVTITRDTSASTAYMELSSLTSEDATAVYYCTRSSYYDGSILFASWQGTTLTVVSSGGGGGGGGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQQASICSRSSQSIVHSNGNTYLYWYLOQKGQPPQQLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCFQGSTLPFTFGQGTKEIK |
| 109 | BCMA-11 | BC H1 38-C1-A4 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTHYNQKFQGKVTITRDTSASTAYMELSSLTSEDATAVYYCTRSSYYDGSILFASWQGTTLTVVSSGGGGGGGGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQQASICSRSSQSIVHSNGNTYLYWYLOQKGQPPQQLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCFQGSTLPFTFGQGTKEIK |
| 110 | BCMA-11 HL x CD3 HL | BC H1 38-C1-A4 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTHYNQKFQGKVTITRDTSASTAYMELSSLTSEDATAVYYCTRSSYYDGSILFASWQGTTLTVVSSGGGGGGGGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQQASICSRSSQSIVHSNGNTYLYWYLOQKGQPPQQLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCFQGSTLPFTFGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSILKLSCAAAGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDATAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVVSSGGGSGGGGSGQTVVVIQEP SLTVSPGGTVTLLTCGSSSTGAUTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLLGGKAAL |

| | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|--|
| | | | | TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 111 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | VH CDR1 | aa NYWIH |
| 112 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | VH CDR2 | aa AIYFGNSDTHYNQKFQG |
| 113 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | VH CDR3 | aa SSYYVDGSLFAS |
| 114 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | VL CDR1 | aa KSSQQSIVHSNGNTLY |
| 115 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | VL CDR2 | aa RVSNRFS |
| 116 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | VL CDR3 | aa FQGSHLPFT |
| 117 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | VH | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYWIHWVVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTTHYNQKFQGK VTITRDTSASTAYMELSLSLTSEDTAVYYCTRSSYYDDGSLFASWQGQTLTVTVSS |
| 118 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | VL | aa DIVMTQTPLSISVTPGQQASI SCKSSQSIVHNSNGNTLYWYLLQKPGQPPQTLFQGQTKLEIK SGSGSGTDFDTLKISRVEAEDVGYYCFQGSHLPFTFGQGTKEIK |
| 119 | BCMA-12 | BC H1 38-C1-F12 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVRVSCKASGYTFNYWIHWVVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTTHYNQKFQGK VTITRDTSASTAYMELSLSLTSEDTAVYYCTRSSYYDDGSLFASWQGQTLTVVSSGGGGGGGG GSDIVMTQTPLSISVTPGQQASI SCKSSQSIVHNSNGNTLYWYLLQKPGQPPQTLIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFDTLKISRVEAEDVGYYCFQGSHLPFTFGQGTKEIK |
| 120 | BCMA-12 HL x CD3 HL | BC H1 38-C1-F12 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNYWIHWVVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTTHYNQKFQGK VTITRDTSASTAYMELSLSLTSEDTAVYYCTRSSYYDDGSLFASWQGQTLTVVSSGGGGGGGG GSDIVMTQTPLSISVTPGQQASI SCKSSQSIVHNSNGNTLYWYLLQKPGQPPQTLIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFDTLKISRVEAEDVGYYCFQGSHLPFTFGQGTKEIK GGSILKLSCAAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLTVVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSNNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 121 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | VH CDR1 | aa NYWIH |
| 122 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | VH CDR2 | aa AIYFGNSDTHYNQKFQG |
| 123 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | VH CDR3 | aa SSYYVDGSLFAS |

| | | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|----|---|
| 124 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | VL CDR1 | aa | KSSQSVHSNGNTYI |
| 125 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | VL CDR2 | aa | RVSNRFS |
| 126 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | VL CDR3 | aa | FQGSTLPFT |
| 127 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | VH | aa | QVQLVQSGAVVAKPGASVKSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWMGAIYPGNSDTHYNQKFQGR VTLTIDTSASTAYMELSSLRNEDTAVYYCTRSSYYDGSILFASWQGTTLTVSSGGGSGGGSGGG |
| 128 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | VL | aa | DIVMTQTPLSSLVTPTGQQASIQCCKSSQSISVHSNGNTYLVWYQKPGQPPQLLIYRVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFITLKIISRVEAEDVGVYCFQGSTLPLPFTFGQGTKLEIK |
| 129 | BCMA-13 | BC H1 39-B2-A4 | scFv | aa | QVQLVQSGAVVAKPGASVKSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWMGAIYPGNSDTHYNQKFQGR VTLTIDTSASTAYMELSSLRNEDTAVYYCTRSSYYDGSILFASWQGTTLTVSSGGGSGGGSGGG GSDIVMTQTPLSSLVTPTGQQASIQCCKSSQSISVHSNGNTYLVWYQKPGQPPQLLIYRVSNRFSGVPDFR FESGSGSGTDFITLKIISRVEAEDVGVYCFQGSTLPLPFTFGQGTKLEIK |
| 130 | BCMA-13 HL x CD3 HL | BC H1 39-B2-A4 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAVVAKPGASVKSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWMGAIYPGNSDTHYNQKFQGR VTLTIDTSASTAYMELSSLRNEDTAVYYCTRSSYYDGSILFASWQGTTLTVSSGGGSGGGSGGG GSDIVMTQTPLSSLVTPTGQQASIQCCKSSQSISVHSNGNTYLVWYQKPGQPPQLLIYRVSNRFSGVPDFR FESGSGSGTDFITLKIISRVEAEDVGVYCFQGSTLPLPFTFGQGTKLEIK GGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRAOPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMNNLKT SILTSPFGGTVTLTCGSSTIGAVTSGNYPNWWQOKPGQAPRGLIGGTTKFLAPGTPARFSGSLLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWTFGGTKLTVL |
| 131 | BCMA-14 | BC H1 39-B2-F12 | VH CDR1 | aa | NYWIH |
| 132 | BCMA-14 | BC H1 39-B2-F12 | VH CDR2 | aa | AIYPGNSDTHYNQKFQG |
| 133 | BCMA-14 | BC H1 39-B2-F12 | VH CDR3 | aa | SSYYIDGSLFAS |
| 134 | BCMA-14 | BC H1 39-B2-F12 | VL CDR1 | aa | KSSQSVHSNGNTYI |
| 135 | BCMA-14 | BC H1 39-B2-F12 | VL CDR2 | aa | RVSNRFS |
| 136 | BCMA-14 | BC H1 39-B2-F12 | VL CDR3 | aa | FQGSHLPFT |
| 137 | BCMA-14 | BC H1 39- | VH | aa | QVQLVQSGAVVAKPGASVKSCKASGYTFTNYWIHWVKQAPGQRLEWMGAIYPGNSDTHYNQKFQGR |

| | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|--|
| | | B2-F12 | | VTLTDTSASTAYMELSLRNEDTAVYYCTRSSYYDGSLFASWQGTLVTVSS |
| 138 | BCMA-14 | BC H1 39-B2-F12 | VL | aa DIVMTQPLSVVTPGQQASI SCKSSQSIVHSNGNTYLYWYLQKPGQPPQLLIYRVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFITLKISRVEAEDVGVYCFQGSHLPLPFTFGQGTKEIK |
| 139 | BCMA-14 | BC H1 39-B2-F12 | scFv | aa QVQLVQSGAVVAKPGASVKVSCKASGYTFTNWYIHWKQAPGQRLEWMGAIYPGNNSDTHYNQKFQGR VTLTDTSASTAYMELSLRNEDTAVYYCTRSSYYDGSLFASWQGTLVTVSSGGGGGGGGGG GSDIVMTQPLSVTPGQQASI SCKSSQSIVHSNGNTYLYWYLQKPGQPPQLLIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFITLKISRVEAEDVGVYCFQGSHLPLPFTFGQGTKEIK |
| 140 | BCMA-14 HL x CD3 HL | BC H1 39-B2-F12 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QVQLVQSGAVVAKPGASVKVSCKASGYTFTNWYIHWKQAPGQRLEWMGAIYPGNNSDTHYNQKFQGR VTLTDTSASTAYMELSLRNEDTAVYYCTRSSYYDGSLFASWQGTLVTVSSGGGGGGGGGG GSDIVMTQPLSVTPGQQASI SCKSSQSIVHSNGNTYLYWYLQKPGQPPQLLIYRVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFITLKISRVEAEDVGVYCFQGSHLPLPFTFGQGTKEIK |
| 141 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | VH CDR1 | aa SYWIH |
| 142 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | VH CDR2 | aa A IYPGNNSDTHYNQKFQG |
| 143 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | VH CDR3 | aa SSYYIDGSLFAD |
| 144 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | VL CDR1 | aa KSSQSIVHSNGNTYLY |
| 145 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | VL CDR2 | aa RVSNRFS |
| 146 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | VL CDR3 | aa FQGSTLPFT |
| 147 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | VH | aa QVQLVQSGAVVAKPGASVKVSCKASGYFTSYIHWKQAPGQRLEWIGAIYPGNNSDTHYNQKFQGR VTLTDTSASTAYMELSLRNEDTAVYYCTRSSYYDGSLFADWQGTKEIK |
| 148 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | VL | aa DIVMTQPLSVTPGQFASISCKSSQSIVHSNGNTYLYWYLQKPGQPPQLLIYRVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFITLKISRVEAEDVGVYCFQGSTLPFTFGQGTKEIK |
| 149 | BCMA-15 | BC H1 39-C9-A4 | scFv | aa QVQLVQSGAVVAKPGASVKVSCKASGYFTSYIHWKQAPGQRLEWIGAIYPGNNSDTHYNQKFQGR VTLTDTSASTAYMELSLRNEDTAVYYCTRSSYYDGSLFADWQGTKEIK |

| | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|---|
| | | | | RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQGSTLPPFTFGQGTKLEIK |
| 150 | BCMA-15 HL x CD3 HL | BC H1 39-C9-A4 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa |
| 151 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | VH CDR1 | aa SYWIH |
| 152 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | VH CDR2 | aa AIYPGNSDTHYNQKFQG |
| 153 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | VH CDR3 | aa SSYYDGSFLFAD |
| 154 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | VL CDR1 | aa KSSQSVHSNGNTYLY |
| 155 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | VL CDR2 | aa RVSNRES |
| 156 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | VL CDR3 | aa FQGSHLPFT |
| 157 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | VH | aa QVQLVQSGAEVKPGTSVVKSCASGYTFTSYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTHYNQKFQGR VTLTRDTSSASTAYMELSSLRSEDSAVYYCTRSSYYDGSLFADWGQGTLYVTSGGGGSGGGGG |
| 158 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | VL | aa DIVMTQIPLSSLVTGPQPASISCKSSQSIVHSNGNTYLYWYLQKPGQPQQPQLLYRVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQGSHLPFTFGQGTKLEIK |
| 159 | BCMA-16 | BC H1 39-C9-F12 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKPGTSVVKSCASGYTFTSYWIHWVKQAPGQRLEWIGAIYPGNSDTHYNQKFQGR VTLTRDTSSASTAYMELSSLRSEDSAVYYCTRSSYYDGSLFADWGQGTLYVTSGGGGSGGGGG GSDIVMTQIPLSSLVTGPQPASISCKSSQSIVHSNGNTYLYWYLQKPGQPQQPQLLYRVSNRFSGVPDRF RGSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCFQGSHLPFTFGQGTKLEIK |
| 160 | BCMA-16 HL x CD3 HL | BC H1 39-C9-F12 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa |

| | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|---|
| | | | | YLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLVTVSSGGGGSGGGSGQAPRGLIGGTKF LAPGTPARFSGSLLGGKAAL SLTVSPGGTVLTCGSSTGAVTSGNYPNWQOKPGQAPRGLIGGTKF LAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 161 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | VH CDR1 | aa NFDMA |
| 162 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | VH CDR2 | aa SITTGADHAIYADSVKG |
| 163 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | VH CDR3 | aa HGYYDGYHLDFY |
| 164 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | VL CDR1 | aa RASQGISNYLN |
| 165 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | VL CDR2 | aa YTSNLQS |
| 166 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | VL CDR3 | aa QQYDISSYT |
| 167 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | VH | aa EVQLVESGGGLVQPQGGSLRLSCAASGFTESNFDMAWRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKG FTISRDNNAKNTLYLQMDSLRAEDTA VYYCVRHGYYDGYHLDFYWGQGTLVIVS |
| 168 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | VL | aa DIQMTOSPSSLSASVGDRVTTICRASQGISMNLQSGVPSRFSGSG GTDYTLTISSLOPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTKLEIK |
| 169 | BCMA-17 | BC C3 33-D7-E6 | scFv | aa EVQLVESGGGLVQPQGGSLRLSCAASGFTESNFDMAWRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKG FTISRDNNAKNTLYLQMDSLRAEDTA VYYCVRHGYYDGYHLDFYWGQGTLVIVS GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTICRASQGISMNLQSGVPSRFSGSG GSGTDYTLTISSLOPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTKLEIK |
| 170 | BCMA-17 HL x CD3 HL | BC C3 33-D7-E6 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa EVQLVESGGGLVQPQGGSLRLSCAASGFTESNFDMAWRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKG FTISRDNNAKNTLYLQMDSLRAEDTA VYYCVRHGYYDGYHLDFYWGQGTLVIVS GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTICRASQGISMNLQSGVPSRFSGSG GSGTDYTLTISSLOPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTKLEIK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKIGLEWARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLVTVSSGGGGSGGGSGQEPSTLTVSPGGTVLTCGSSTGAVTSGNYPNWQOKPGQAPRGLIGGTKF LAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 171 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | VH CDR1 | aa NFDMA |
| 172 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | VH CDR2 | aa SITTGADHAIYADSVKG |

| | | | | | |
|-----|---------------------|------------------------------------|---------|----|--|
| 173 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | VH CDR3 | aa | HGYIDGYHLFDY |
| 174 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | VL CDR1 | aa | RASQGISNYLN |
| 175 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 176 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | VL CDR3 | aa | MGQTISSYT |
| 177 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQGTLVTVSS |
| 178 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | VL | aa | DIQMTCQSPSSLASAVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GTDYLTISLQPEDFATYCMGQTISSYTFGQGTKLEIK |
| 179 | BCMA-18 | BC C3 33-D7-E6B1 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GSGTDYLTISLQPEDFATYCMGQTISSYTFGQGTKLEIK |
| 180 | BCMA-18 HL x CD3 HL | BC C3 33-D7-E6B1 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GSGTDYLTISLQPEDFATYCMGQTISSYTFGQGTKLEIK LSCAAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKIEDTAVYYCVRHGNEFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSQTVVTVQEPSLTVS PGGTVTLLTCGSTSTGAVTSGNYPNWQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDAEYYCVALWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 181 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 182 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | VH CDR2 | aa | SITTGADHAIYADSVKGR |
| 183 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | VH CDR3 | aa | HGYIDGYHLFDY |
| 184 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | VL CDR1 | aa | RASQGISNYLN |
| 185 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 186 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | VL CDR3 | aa | QQYDISSYT |

| | | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|----|--|
| | | F8-E6 | | | |
| 187 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | VH | aa | EVQLVESEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYDGHLFDYWGQGTIVTIVSS |
| 188 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAKPPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GTDYTLTISSLQPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTKLEIK |
| 189 | BCMA-19 | BC C3 33-F8-E6 | scFv | aa | EVQLVESEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYDGHLFDYWGQGTIVTIVSSGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAKPPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTKLEIK |
| 190 | BCMA-19 HL × CD3 HL | BC C3 33-F8-E6 HL × CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLVESEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYDGHLFDYWGQGTIVTIVSSGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAKPPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTKLEIK |
| 191 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 192 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | VH CDR2 | aa | SITTGADHAIYADSVKGR |
| 193 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | VH CDR3 | aa | HGYYDGYHLFDY |
| 194 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | VL CDR1 | aa | RASQGISNYLN |
| 195 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 196 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | VL CDR3 | aa | MGQTISYT |
| 197 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | VH | aa | EVQLVESEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYDGHLFDYWGQGTIVTIVSS |
| 198 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAKPPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GTDYTLTISSLQPEDFATYYCMGTISYTFGQGTKLEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|------------------------------------|---------|----------|--|
| 199 | BCMA-20 | BC C3 33-F8-E6B1 | scFv | aa | EVQLVESEGGGLVQPFGGSIRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYDGHYLFDYWGQGTLTVVSSGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLQSGVPSSRSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCMQTISSYTFGQGTLEIK |
| 200 | BCMA-20 HL x CD3 HL | BC C3 33-F8-E6B1 HL x CD3 HL | | aa aa | EVQLVESEGGGLVQPFGGSIRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYDGHYLFDYWGQGTLTVVSSGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLQSGVPSSRSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCMQTISSYTFGQGTLEIK LSCAASGFTFNKYAMNNWVRQAPGKGLWEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLTVVSSGGSGGGSGGGSGGG PGGTIVLTTCGSSSTGAVTSGNYPNWQQKPQOAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLIGGKAALTLISGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 201 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 202 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | VH CDR2 | aa | SITTGADHAIYADSVKG |
| 203 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | VH CDR3 | aa | HGYYDGYHLDY |
| 204 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | VL CDR1 | aa | |
| 205 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | VL CDR2 | aa | RASQGISNYLN |
| 206 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | VL CDR3 | aa | QQYDISSYT |
| 207 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | VH | aa | EVQLVESEGGGLVQPFGGSIRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYDGHYLFDYWGQGTLTVVSS |
| 208 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVITSCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLQSGVPSSRSGS GTDYTLTISSLQPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTLEIK |
| 209 | BCMA-21 | BC C3 33-F9-E6 | scFv | aa | EVQLVESEGGGLVQPFGGSIRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYDGHYLFDYWGQGTLTVVSSGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITSCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLQSGVPSSRSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTLEIK |
| 210 | BCMA-21 HL x CDS HL | BC C3 33-F9-E6 HL | | aa | EVQLVESEGGGLVQPFGGSIRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYDGHYLFDYWGQGTLTVVSSGGSGGGGG |

| | | | | |
|-----|---------------------|--------------------------------------|-------------|---|
| | | x CD3 HL | | GSDIQMTOQSPSSLASAVGDRVTISCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYTSNLQSGVP SRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQYDISSYTFGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRETISSRDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLTVSSGGGSQTVVTQEPSTLTVS PGGTIVTLLTGSSTGAVTSGNYPNWVQOKPQOAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGLLGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 211 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | VH CDR1 | aa |
| 212 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | VH CDR2 | aa |
| 213 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | VH CDR3 | aa |
| 214 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | VL CDR1 | aa |
| 215 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | VL CDR2 | aa |
| 216 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | VL CDR3 | aa |
| 217 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | VH | aa |
| 218 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | VL | aa |
| 219 | BCMA-22 | BC C3 33-F9-E6B1-E | scFv | aa |
| 220 | BCMA-22 HL x CD3 HL | BC C3 33-F9-E6B1-E HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-------------------------------------|---------|----|---|
| 221 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 222 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | VH CDR2 | aa | SITTGADHAIYADSVKGR |
| 223 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | VH CDR3 | aa | HGYYDGYHLDY |
| 224 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | VL CDR1 | aa | RASQGISNYIN |
| 225 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | VL CDR2 | aa | YTASNQSNLQS |
| 226 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | VL CDR3 | aa | MGQTISSYT |
| 227 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNNAKNTLYLQMNSSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLYFDWGQGTLYLFDYWGQTLTVSSGGGGSGGGGG |
| 228 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | VL | aa | DIQMTOQSPSSLSAVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLQSGVPSSRGSGS GTDFTLTISLQLPEDFATYYCMQTISSYTFGQGTKLEIK |
| 229 | BCMA-23 | BC C3 33-F10-E6B1 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNNAKNTLYLQMNSSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLYFDWGQGTLYLFDYWGQTLTVSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYTSNLQSGVPSSRGSGS GSGTDFITLTISLQLPEDFATYYCMQTISSYTFGQGTKLEIK |
| 230 | BCMA-23 HL x CD3 HL | BC C3 33-F10-E6B1 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGADHAIYADSVKGR FTISRDNNAKNTLYLQMNSSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLYFDWGQGTLYLFDYWGQTLTVSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYTSNLQSGVPSSRGSGS GSGTDFITLTISLQLPEDFATYYCMQTISSYTFGQGTKLEIK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYSISWAYWQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTVQEPSTLV PGGTVTLLCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLLGGKAALLTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 231 | BCMA-24 | BC B6 64-H5-A4 | VH CDR1 | aa | DYVIN |
| 232 | BCMA-24 | BC B6 64-H5-A4 | VH CDR2 | aa | WYFASGNSEYNQKFTG |
| 233 | BCMA-24 | BC B6 64-H5-A4 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |
| 234 | BCMA-24 | BC B6 64- | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-------------------------------|-------------|----|---|
| | | H5-A4 | | | |
| 235 | BCMA-24 | BC B6 64-H5-A4 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 236 | BCMA-24 | BC B6 64-H5-A4 | VL CDR3 | aa | AETSHVPWT |
| 237 | BCMA-24 | BC B6 64-H5-A4 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDTCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSYAFCASLYDQYFCAETSHVPWTFGQGTKLEIK |
| 238 | BCMA-24 | BC B6 64-H5-A4 | VL | aa | DIVMTQTPLSSLVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLOQPKGPQSPQLIYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKINRVEAEDVGVYCYAETSHVPWTFGQGTKLEIK |
| 239 | BCMA-24 | BC B6 64-H5-A4 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDTCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSYAFCASLYDQYFCAETSHVPWTFGQGTKLEIK DIVMTQTPLSSLVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLOQPKGPQSPQLIYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKINRVEAEDVGVYCYAETSHVPWTFGQGTKLEIK |
| 240 | BCMA-24 HL x CD3 HL | BC B6 64-H5-A4 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDTCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSYAFCASLYDQYFCAETSHVPWTFGQGTKLEIK DIVMTQTPLSSLVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLOQPKGPQSPQLIYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKINRVEAEDVGVYCYAETSHVPWTFGQGTKLEIK SGSGSGTDFTLKINRVEAEDVGVYCYAETSHVPWTFGQGTKLEIK SGNSYISYWAYWGQGTLYTVTSGGGGSGGGSGGGSQTVVTQEPSSL QMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLYTVTSGGGGSGGGSGGGSGGGSQTVVTQEPSSL TVSPGGTVTLICGSSTGAUTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT SGVQPEDEAEEYCYCVALWYSNRRWVFGGGTKLTVL |
| 241 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 242 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | VH CDR2 | aa | WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 243 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |
| 244 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 245 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 246 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | VL CDR3 | aa | LTTSHVPWT |
| 247 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDTCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSYAFCASLYDQYFCAETSHVPWTFGQGTKLEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|----|--|
| 248 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | VL | aa | DIVMTQTPLSSLVTPGQFASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLLYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKINRVEAEDVGVYYCLTTSHVPWTFGQGTKEI |
| 249 | BCMA-25 | BC B6 64-H5-H9 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYSEFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDТАVYFCASLYDIDWYFDVWGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGG DIVMTQTPLSSLVTPGQFASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLLYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKINRVEAEDVGVYYCLTTSHVPWTFGQGTKEI |
| 250 | BCMA-25 HL x CD3 HL | BC B6 64-H5-H9 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYSEFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDТАVYFCASLYDIDWYFDVWGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGG DIVMTQTPLSSLVTPGQFASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLLYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKINRVEAEDVGVYYCLTTSHVPWTFGQGTKEI SLKLSCCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEMWAVARIRKSYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDТАVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSL TVSPGGTVTLLTCGSSTGAUTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTPARFSGSLLGKAALT SGVQPEDEAEYYCVALWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 251 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 252 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | VH CDR2 | aa | WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 253 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |
| 254 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 255 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 256 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | VL CDR3 | aa | AETSHVPWT |
| 257 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | VL | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYSEFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDТАVYFCASLYDIDWYFDVWGQGTMVTVSS |
| 258 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | VL | aa | DIVMTQTPLSSLVTPGQFASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLLYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVPWTFGQGTKEI |
| 259 | BCMA-26 | BC B6 65-B5-A4 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYSEFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDТАVYFCASLYDIDWYFDVWGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGG DIVMTQTPLSSLVTPGQFASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLLYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAETSHVPWTFGQGTKEI |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------------|-------------|----|--|
| 260 | BCMA-26 HL x CD3 HL | BC B6 65- B5-A4 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa | QVQLVQSGAEEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDYYINMVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD YDWYFDVWQGQTMVTVSSGGGS GGGS GGGS DIVMTQTPLSL SVTPQOPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPQSPQLI LYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCAETSHVPWTFQGQTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLKLSCAASGFTENKYAMMWVRQAPGKGLEMWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLVTVSSGGGS GGGS QTVVVTQEPSSL TVSPGGTVTLLTCGSSTIGAVTSGNYPNWNVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLGGKAALT SGVQPEDEAEEYYCVLWYSNRWVEGGTKLTVL |
| 261 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 262 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | VH CDR2 | aa | WIVFASGNSEYNQKFTG |
| 263 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |
| 264 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 265 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | VL CDR2 | aa | KVSNRF S |
| 266 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | VL CDR3 | aa | LTTISHVPWT |
| 267 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | VH | aa | QVQLVQSGAEEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDYYINMVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD YDWYFDVWQGQTMVTVSS |
| 268 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | VL | aa | DIVMTQTPLSL SVTPQOPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPQSPQLI LYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCLTTSHVPWTFQGQTKLEIK |
| 269 | BCMA-27 | BC B6 65- B5-H9 | scFv | aa | QVQLVQSGAEEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDYYINMVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD YDWYFDVWQGQTMVTVSSGGGS GGGS GGGS DIVMTQTPLSL SVTPQOPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPQSPQLI LYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCLTTSHVPWTFQGQTKLEIK |
| 270 | BCMA-27 HL x CD3 HL | BC B6 65- B5-H9 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa | QVQLVQSGAEEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDYYINMVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD YDWYFDVWQGQTMVTVSSGGGS GGGS GGGS DIVMTQTPLSL SVTPQOPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPQSPQLI LYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCLTTSHVPWTFQGQTKLEIK SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYCLTTSHVPWTFQGQTKLEIK SLKLSCAASGFTENKYAMMWVRQAPGKGLEMWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLVTVSSGGGS GGGS QTVVVTQEPSSL TVSPGGTVTLLTCGSSTIGAVTSGNYPNWNVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLGGKAALT TVSPGGTVTLLTCGSSTIGAVTSGNYPNWNVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLGGKAALT |

| | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|--|
| | | | | SGVQPEDAEFYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 271 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | VH CDR1 | aa DYYIN |
| 272 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | VH CDR2 | aa WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 273 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | VH CDR3 | aa LYDYDWYFDV |
| 274 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | VL CDR1 | aa KSSQQSLVHSNGNTYLH |
| 275 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | VL CDR2 | aa KVSNRFS |
| 276 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | VL CDR3 | aa AETSHVPMT |
| 277 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | VH | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSF P DYY INWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTG VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDТАVYFCASLYD YDWYFDVWQGTMVTVS |
| 278 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | VL | aa DIVMTQTPLSISVSPGPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLH WYLOQPKPQSPOLLIYKVSNRFSGV PDRF SGSGSGTIDFTLKI S RVEAE DVGVYYCAETSHVPWTFGGT KLEIK |
| 279 | BCMA-28 | BC B6 65-H7-A4 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSF P DYY INWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTG VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDТАVYFCASLYD YDWYFDVWQGTMVTVS DIVMTQTPLSISVSPGPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLH WYLOQPKPQSPOLLIYKVSNRFSGV PDRF SGSGSGTIDFTLKI S RVEAE DVGVYYCAETSHVPWTFGGT KLEIK |
| 280 | BCMA-28 HL x CD3 HL | BC B6 65-H7-A4 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QMNLKTEDТАVYYCVRHGNEFGNSYI SYWAYWQGTLV TVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT SGVQPEDAEFYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 281 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | VH CDR1 | aa DYYIN |
| 282 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | VH CDR2 | aa WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 283 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | VH CDR3 | aa LYDYDWYFDV |

| | | | | | |
|------------|---------------------|----------------------------|---------|---|---|
| 284 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYIH |
| 285 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 286 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | VL CDR3 | aa | LTTSHPWT |
| 287 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD D WYFDVWGQGT MVT VSSGGGS GGGS S |
| 288 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | VL | aa | DIVMTQTPLSSLVSPGPASI SCKSSSQLVHSNNGNTYLHWYLOKPQSPQLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFITLKISRVEAEDVGVYCYCLTTSHVPWTFGQGTKLEIK |
| 289 | BCMA-29 | BC B6 65-H7-H9 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD D WYFDVWGQGT MVT VSSGGGS GGGS DIVMTQTPLSSLVSPGPOFASI SCKSSSQLVHSNNGNTYLHWYLOKPQSPQLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFITLKISRVEAEDVGVYCYCLTTSHVPWTFGQGTKLEIK |
| 290 | BCMA-29 HL x CD3 HL | BC B6 65-H7-H9 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD D WYFDVWGQGT MVT VSSGGGS GGGS DIVMTQTPLSSLVSPGPOFASI SCKSSSQLVHSNNGNTYLHWYLOKPQSPQLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFITLKISRVEAEDVGVYCYCLTTSHVPWTFGQGTKLEIK SIKLSCAA SGFT FNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTED TAVYYCVRHGNFGNSI SYWAYWQGT LTVTSSGGGS GGGS TVSPGGTVL TCGSSTGA VTSGNYPN VQQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT SGVQPEDEA EYYC VLVWSNRWVFGGTKL TVL |
| 291 | BCMA-30 | BC B6 65-H8-A4 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 292 | BCMA-30 | BC B6 65-H8-A4 | VH CDR2 | aa | W IYFASGNSEYNQKFTG |
| 293 | BCMA-30 | BC B6 65-H8-A4 | VH CDR3 | aa | L YDYDWYFDV |
| 294 | BCMA-30 | BC B6 65-H8-A4 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYIH |
| 295 | BCMA-30 | BC B6 65-H8-A4 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 296 | BCMA-30 | BC B6 65-H8-A4 | VL CDR3 | aa | AETSHVPWT |
| 297 | BCMA-30 | BC B6 65-VH | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR | |

| | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|--|
| | | H8-A4 | | VMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDWDYFDWNGQGTMVTVSS |
| 298 | BCMA-30 | BC B6 65-H8-A4 | VL | DIVMTQTPLSLSVTGEPEASIICKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGADFTLKRISRVEAEDEVGVYYCAETSHVPTWFGQGTKEIK |
| 299 | BCMA-30 | BC B6 65-H8-A4 | scFv | DIVMTQTPLSLSVTGEPEASIICKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGADFTLKRISRVEAEDEVGVYYCAETSHVPTWFGQGTKEIK |
| 300 | BCMA-30 HL x CD3 HL | BC B6 65-H8-A4 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | QYQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPCQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDWDYFDWNGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGGGS DIVMTQTPLSLSVTGEPEASIICKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGADFTLKRISRVEAEDEVGVYYCAETSHVPTWFGQGTKEIK |
| 301 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | VH CDR1 | aa DYYIN |
| 302 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | VH CDR2 | aa WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 303 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | VH CDR3 | aa LYDYDWYFDV |
| 304 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | VL CDR1 | aa KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 305 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | VL CDR2 | aa KVSNRFS |
| 306 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | VL CDR3 | aa LTTSHVPTW |
| 307 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | VH | aa QYQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPCQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDWDYFDWNGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGGGS |
| 308 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | VL | DIVMTQTPLSLSVTGEPEASIICKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGADFTLKRISRVEAEDEVGVYYCLTSHVPTWFGQGTKEIK |
| 309 | BCMA-31 | BC B6 65-H8-H9 | scFv | QYQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPCQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDWDYFDWNGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGGGS DIVMTQTPLSLSVTGEPEASIICKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGADFTLKRISRVEAEDEVGVYYCLTSHVPTWFGQGTKEIK |

| | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|----------|--|
| | | | | SGSGGADFTLKISRVEAEDVGVYYCLTTSHVPWTFQGQTKEI |
| 310 | BCMA-31 HL x CD3 HL | BC B6 65-H8-H9 HL x CD3 HL | 二重特異性 aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSEPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYYDWYFDVWQGQTMVTSSGGGSGGGSGGGGS DIVMTQTPPLSLSVTPGEPAISCKSSQSLVHSNGNTYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFR SGSGGADFTLKRISRVEAEDVGVYYCLTTSHVPWTFQGQTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLKLSCAAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS SKNTAYL QMNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNS YISYWAYWQGOTLTVTSSGGGSGGGSGGGSQTVVTQEPSSL TVSPGGTVTLCGSSTGAUTSGNYPNQKPGQAPRGGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 311 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | VH CDR1 | aa NHIIH |
| 312 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | VH CDR2 | aa YINPYPGYHAYNEKFQG |
| 313 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | VH CDR3 | aa DGYYRDTDVLDY |
| 314 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | VL CDR1 | aa QASQDISNYLN |
| 315 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | VL CDR2 | aa YTSLRHT |
| 316 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | VL CDR3 | aa QQGNITLPWT |
| 317 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | VH | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHI IHMVRQAPGQGLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGR ATMTSDTSTSIVYMEMLSSLRSEDTAVYCCARDGYRDTDVLDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGSGGG |
| 318 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | VL | aa DIQMTQSPSSLASLGDRVTITCQA S QDI SNYLNWYQQKPGKAPKLLI YYTSRLHTGVPSRFSGSGS GTDF TFTISSLQQEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKEIK |
| 319 | BCMA-32 | BC A7 27-A6-G7 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHI IHMVRQAPGQGLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGR ATMTSDTSTSIVYMEMLSSLRSEDTAVYCCARDGYRDTDVLDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGSGGG GSDIOMTQSPSSLSASLGDRVTITCQA S QDI SNYLNWYQQKPGKAPKLLI YYTSRLHTGVPSRFSGSGS GSGTDF TFTISSLQQEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKEIK |
| 320 | BCMA-32 HL x CD3 HL | BC A7 27-A6-G7 HL x CD3 HL | 二重特異性 aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHI IHMVRQAPGQGLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGR ATMTSDTSTSIVYMEMLSSLRSEDTAVYCCARDGYRDTDVLDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGSGGG GSDIOMTQSPSSLSASLGDRVTITCQA S QDI SNYLNWYQQKPGKAPKLLI YYTSRLHTGVPSRFSGSGS GSGTDF TFTISSLQQEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKEIK LSCAAASGFTFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS SKNTAYLQMN |

| | | | | |
|-----|---------------------|--------------------------|---------|--|
| | | | | NIKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLVTVSSGGGGSGGGSGQTVVTQEPSLTVSPGGTVLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV |
| 321 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | VH CDR1 | aa NH1H |
| 322 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | VH CDR2 | aa YINPYDGWGDYNFKFQG |
| 323 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | VH CDR3 | aa DGYYRDAVDVLVY |
| 324 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | VL CDR1 | aa QASQDISNYLN |
| 325 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | VL CDR2 | aa YTSRLHT |
| 326 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | VL CDR3 | aa QQGNTLWPWT |
| 327 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | VH | aa QVQLVQSGAEVKPGASVVKVSCKASGYFTTNHIHWVVRQAPGQGLEWMGYINPYDGWGDYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARDGYYRDADVLQDYGQTLVTVSSGGGGSGGGG |
| 328 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | VL | aa DIQMTQSPSSLASLGDRVTITCQASQDISNLYNWWQKPGKAPKLIIYTSRLLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQQEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTTKVEIK |
| 329 | BCMA-33 | BC A7 27-A6-H11 | scFv | QVQLVQSGAEVKPGASVVKVSCKASGYFTTNHIHWVVRQAPGQGLEWMGYINPYDGWGDYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARDGYYRDADVLQDYGQTLVTVSSGGGGSGGGGGSIDIQMTQSPSSLASLGDRVTITCQASQDISNLYNWWQKPGKAPKLIIYTSRLLHTGVPSRFSGSGSGTDFFTFTISSLQQEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTTKVEIK |
| 330 | BCMA-33 HL x CD3 HL | BC A7 27-A6-H11 x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QVQLVQSGAEVKPGASVVKVSCKASGYFTTNHIHWVVRQAPGQGLEWMGYINPYDGWGDYNEKFQGRATMTSDTSTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARDGYYRDADVLQDYGQTLVTVSSGGGGSGGGGGSIDIQMTQSPSSLASLGDRVTITCQASQDISNLYNWWQKPGKAPKLIIYTSRLLHTGVPSRFSGSGSGTDFFTFTISSLQQEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTTKVEIK |
| 331 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | VH CDR1 | aa NH1H |
| 332 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | VH CDR2 | aa YINPYPGYHAYNEKFQG |

| | | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|----|---|
| 333 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | VH CDR3 | aa | DGYYRDTDVLDY |
| 334 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | VL CDR1 | aa | QASQDISNYLN |
| 335 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | VL CDR2 | aa | YTSRLHT |
| 336 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | VL CDR3 | aa | QQGNTLPPWT |
| 337 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTNHIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYPGYHAYNEKFGQR ATMTSDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVTSS |
| 338 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | VL | aa | DIQMTOQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GTDFTFTISLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKVEIK |
| 339 | BCMA-34 | BC A7 27-C4-G7 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTNHIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYPGYHAYNEKFGQR ATMTSDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVTSSGGGGSGGGGG GSDIQMTOQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFFTFTISLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKVEIK |
| 340 | BCMA-34 HL x CD3 HL | BC A7 27-C4-G7 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYTFTNHIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYPGYHAYNEKFGQR ATMTSDTSTSTVYMEISSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVTSSGGGGSGGGGG GSDIQMTOQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFFTFTISLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKVEIK LSCAAGSFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAWGQGTLLTVSSCGGGSGGGGSQTVVTQEFSLT PGGTVTLTCGSTSTGAUTSGNYPNWYQQKPGQQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLGGKAALTLSGV QPEDEAYYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVI |
| 341 | BCMA-35 | BC A7 27-C4-H11 | VH CDR1 | aa | NHITH |
| 342 | BCMA-35 | BC A7 27-C4-H11 | VH CDR2 | aa | YINPYDGMGDYNEKFGQ |
| 343 | BCMA-35 | BC A7 27-C4-H11 | VH CDR3 | aa | DGYYRDAVDVLDY |
| 344 | BCMA-35 | BC A7 27-C4-H11 | VL CDR1 | aa | QASQDISNYLN |
| 345 | BCMA-35 | BC A7 27-C4-H11 | VL CDR2 | aa | YTSRLHT |
| 346 | BCMA-35 | BC A7 27- | VL CDR3 | aa | QQGNTLPPWT |

| | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|---|
| | | C4-H11 | | |
| 347 | BCMA-35 | BC A7 27-C4-H11 | VH | aa QYQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYFTFTNHIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYDGDYNEKFQGR ATMTSDTISTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARDGYRDADVLVDYWGQGTLVTVSS |
| 348 | BCMA-35 | BC A7 27-C4-H11 | VL | aa DIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTTSRLHTIGVPSRFSGSGS GTDFTFTISSLSEPEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKEIK |
| 349 | BCMA-35 | BC A7 27-C4-H11 | scFv | aa QYQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYFTFTNHIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYDGDYNEKFQGR ATMTSDTISTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARDGYRDADVLVDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTTSRLHTIGVPSRFSGSGS GSGIDFTFTISSLSEPEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKEIK |
| 350 | BCMA-35 HL x CD3 HL | BC A7 27-C4-H11 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QYQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYFTFTNHIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYDGDYNEKFQGR ATMTSDTISTSTVYMESSLRSEDTAVYYCARDGYRDADVLVDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTTSRLHTIGVPSRFSGSGS GSGIDFTFTISSLSEPEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKEIK LSCAASGFIEENKYAMNWVRQAPGKGLEWARIRSCKYNNAYIYADSVKDRF'ILSRDDSKNITYAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYITSYWAAYMGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGQAFRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGLLGKAALTLSGV PGGTVTTLTGSSTGAWSGNYPNWWQQKPGQAFRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGLLGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLL |
| 351 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | VH CDR1 | aa NHI TH |
| 352 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | VH CDR2 | aa YINPYPGYHAYNQKFQG |
| 353 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | VH CDR3 | aa DGYYRDTIDVLDY |
| 354 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | VL CDR1 | aa QASQDISNYLN |
| 355 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | VL CDR2 | aa YTSRLHT |
| 356 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | VL CDR3 | aa QQGNTLPWTF |
| 357 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | VH | aa QYQLVQSGAKVIKPGASVKVSCKASGYFTFTNHIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYDGDYNEKFQGR VTMTRDKSSTSTVYMESSLTSEDTAVYYCARDGYRDADVLVDYWGQGTLVTVSS |
| 358 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | VL | aa DIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLIIYTTSRLHTIGVPSRFSGSGS GTDYSFETISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFQGQTKEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-------------------------|---------|----|--|
| 359 | BCMA-36 | BC A7 15-H2-G7 | scFv | aa | QVQLVQSGAKVIKPGASVKVSCKASGYFTFTNHI IHWVRQKPGQGLEMGYYINPYPGYHAYNQKFQGR VTMTRDKSTSSTVYMEMLSSLTSED TAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLIIYTSSLHTGVPSRSGS GSGTDYSFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 360 | BCMA-36 HL x CD3 HL | BC A7 15-H2-G7 x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAKVIKPGASVKVSCKASGYFTFTNHI IHWVRQKPGQGLEMGYYINPYPGYHAYNQKFQGR VTMTRDKSTSSTVYMEMLSSLTSED TAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSSGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLIIYTSSLHTGVPSRSGS GSGTDYSFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 361 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | VH CDR1 | aa | NHIIH |
| 362 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | VH CDR2 | aa | YINPYDGWDYNQKFQG |
| 363 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | VH CDR3 | aa | DGYYRDADVLDY |
| 364 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | VL CDR1 | aa | QASQDISNYLN |
| 365 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | VL CDR2 | aa | YTSRLHT |
| 366 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | VL CDR3 | aa | QQGNTLPWT |
| 367 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | VH | aa | QVQLVQSGAKVIKPGASVKVSCKASGYFTFTNHI IHWVRQKPGQGLEMGYYINPYPGYHAYNQKFQGR VTMTRDKSTSSTVYMEMLSSLTSED TAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSS |
| 368 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | VL | aa | DIQMTOQSPSSLSASVGDRVTTTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLIIYTSSLHTGVPSRSGS GTDYSFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 369 | BCMA-37 | BC A7 15-H2-H11 | scFv | aa | QVQLVQSGAKVIKPGASVKVSCKASGYFTFTNHI IHWVRQKPGQGLEMGYYINPYPGYHAYNQKFQGR VTMTRDKSTSSTVYMEMLSSLTSED TAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSSGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLIIYTSSLHTGVPSRSGS GSGTDYSFTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 370 | BCMA-37 HL x CD3 HL | BC A7 15-H2-H11 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAKVIKPGASVKVSCKASGYFTFTNHI IHWVRQKPGQGLEMGYYINPYPGYHAYNQKFQGR VTMTRDKSTSSTVYMEMLSSLTSED TAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSSGGGGGGGGGG |

| | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|--|
| | x CD3 HL | | GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDXSFTISSLQPEDIATYCYQQGNTLPWTFGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLLVTVSAGGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG PGGTVTLLTCGSSSTGAVTSGNIPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL |
| 371 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 | VH CDR1 aa NH1H |
| 372 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 | VH CDR2 aa YINPYPGYHAYNQKFQG |
| 373 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 | VH CDR3 aa DGYYRDTDVLDY |
| 374 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 | VL CDR1 aa QASQDISNYLN |
| 375 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 | VL CDR2 aa YTSLH |
| 376 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 | VL CDR3 aa QQGNTLPWT |
| 377 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 | VH aa QVQLVQSGAEVTKPGASVKVSCKASAGYTFTHWVRQPKPGQGLEWIGYINPYPGYHAYNQKFQGK VTMTRDTSTSTVYMEMLSSLTSDETAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSSGGGGSGGGSGGG DIQMTQSPSSLSASLGDRTVTTICQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFTTFTISSLQQEDIATYCYQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 378 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 | VH aa QVQLVQSGAEVTKPGASVKVSCKASAGYTFTHWVRQPKPGQGLEWIGYINPYPGYHAYNQKFQGK VTMTRDTSTSTVYMEMLSSLTSDETAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSSGGGGSGGGSGGG DIQMTQSPSSLSASLGDRTVTTICQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFTTFTISSLQQEDIATYCYQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 379 | BCMA-38 | BC A7 15-H8-G7 scFv | VH aa QVQLVQSGAEVTKPGASVKVSCKASAGYTFTHWVRQPKPGQGLEWIGYINPYPGYHAYNQKFQGK VTMTRDTSTSTVYMEMLSSLTSDETAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSSGGGGSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLSASLGDRTVTTICQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFTTFTISSLQQEDIATYCYQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 380 | BCMA-38 HL x CD3 HL | BC A7 15-H8-G7 HL x CD3 HL | 二重特異性 aa QVQLVQSGAEVTKPGASVKVSCKASAGYTFTHWVRQPKPGQGLEWIGYINPYPGYHAYNQKFQGK VTMTRDTSTSTVYMEMLSSLTSDETAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQTLTVSSGGGGSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLSASLGDRTVTTICQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFTTFTISSLQQEDIATYCYQQGNTLPWTFGQGTKEIK |

| | | | | |
|-----|---------------------|--------------------------------|-------------------|---|
| 381 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 | VH CDR1 aa | NHIIH |
| 382 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 | VH CDR2 aa | YINPYDGWGDYNQKFQG |
| 383 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 | VH CDR3 aa | DGYYRDADVLDY |
| 384 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 | VL CDR1 aa | QASQDISNYLN |
| 385 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 | VL CDR2 aa | YTSRLHT |
| 386 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 | VL CDR3 aa | QQGNTLWPWT |
| 387 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 | VH aa | QVQLVQSGAEVVIKPGASVVKVSCKASAGTYFTTNHIIHWVRQKPGQGLEWIGYINPYDGVGDYNQKFQGK VTMTRDTSTSTVYMELSSLTSEDIAVYYCARDGYYRDAVLDYWGQGTIVLTVSSGGGSGGGSGG GSDIQMTQSPSSLASLGDRVTTICQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFFTTISLQQEDIATYYCQGNTLPWTFQGQTKVEIK |
| 388 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 | VL aa | DIQMTQSPSSSLASLGDRTVITCOASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GTDFFTFTTISLQQEDIATYYCQGNTLPWTFQGQTKVEIK |
| 389 | BCMA-39 | BC A7 15-H8-H11 scFv | | QVQLVQSGAEVVIKPGASVVKVSCKASAGTYFTTNHIIHWVRQKPGQGLEWIGYINPYDGVGDYNQKFQGK VTMTRDTSTSTVYMELSSLTSEDIAVYYCARDGYYRDAVLDYWGQGTIVLTVSSGGGSGGGSGG GSDIQMTQSPSSLASLGDRVTTICQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFFTTISLQQEDIATYYCQGNTLPWTFQGQTKVEIK |
| 390 | BCMA-39 HL x CD3 HL | BC A7 15-H8-H11 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 aa | QVQLVQSGAEVVIKPGASVVKVSCKASAGTYFTTNHIIHWVRQKPGQGLEWIGYINPYDGVGDYNQKFQGK VTMTRDTSTSTVYMELSSLTSEDIAVYYCARDGYYRDAVLDYWGQGTIVLTVSSGGGSGGGSGG GSDIQMTQSPSSLASLGDRVTTICQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHTGVPSRFSGS GSGTDFFTTISLQQEDIATYYCQGNTLPWTFQGQTKVEIK NLKTEDTAVYYCVRHGNEGNSYITSWAYWQGTLTVSSGGGSGGGSGQTVVTOEPSLTVS PGGTVTLLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 391 | BCMA-40 | BC 7A4 96-D4-A12 | VH CDR1 aa | DYYIN |
| 392 | BCMA-40 | BC 7A4 96-D4-A12 | VH CDR2 aa | WIYFASGNSEYNQKFITG |
| 393 | BCMA-40 | BC 7A4 96-D4-A12 | VH CDR3 aa | LYDYDWYFDV |
| 394 | BCMA-40 | BC 7A4 96- | VL CDR1 aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |

| | | | | |
|-----|---------------------|------------------------------|---------|--|
| | | D4-A12 | | |
| 395 | BCMA-40 | BC 7A4 96-D4-A12 | VL CDR2 | aa KVSNRFS |
| 396 | BCMA-40 | BC 7A4 96-D4-A12 | VL CDR3 | aa SQSSTAPWT |
| 397 | BCMA-40 | BC 7A4 96-D4-A12 | VH | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDIAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSS |
| 398 | BCMA-40 | BC 7A4 96-D4-A12 | VL | aa DIVMTQTPLSLPVTLQFOPASIICKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLITYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKISRVEAADVGVYCYCSQSSTAPWTFGQGTKLEIK |
| 399 | BCMA-40 | BC 7A4 96-D4-A12 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDIAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGSGGS DIVMTQTPLSLPVTLQFOPASIICKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLITYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKISRVEAADVGVYCYCSQSSTAPWTFGQGTKLEIK |
| 400 | BCMA-40 HL x CD3 HL | BC 7A4 96-D4-A12 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDIAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSSGGGSGGGGSGGGSGGG DIVMTQTPLSLPVTLQFOPASIICKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLITYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKISRVEAADVGVYCYAMNWRQAPGKGLEVARIRSKYANNYATYYADSVKDRFTISRDDS SLRKLSCAASGFTENKYAMNWRQAPGKGLEVARIRSKYANNYATYYADSVKDRFTISRDDS QMNNILKTEDIAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTILVTVSSGGGGSGGGSGGGSQTVVTQEPSSL TVSPGGTVTLTCGSSTGAUTSGNYPNWNQQKPGQAPRGLIGGTFKLAPGTPARFSGSLLGGKAALT SGVQPEDEAEEYYCVALWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 401 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-D7 | VH CDR1 | aa DYYIN |
| 402 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-D7 | VH CDR2 | aa WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 403 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-D7 | VH CDR3 | aa LYDYDWYFDV |
| 404 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-D7 | VH CDR1 | aa KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 405 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-D7 | VH CDR2 | aa KVSNRFS |
| 406 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-D7 | VH CDR3 | aa SQSSIYFWT |
| 407 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-D7 | VH | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDIAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMTVSS |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|---|
| 408 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-E7 | VL | aa | DIVMTQTPSLPVTLGQPASISCKSSOSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSSIYWPWTFGQGTKEIK |
| 409 | BCMA-41 | BC 7A4 96-D4-E7 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVSSGGSGGGGS DIVMTQTPSLPVTLGQPASISCKSSOSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSSIYWPWTFGQGTKEIK |
| 410 | BCMA-41 HL x CD3 HL | BC 7A4 96-D4-E7 HL x CD3 HL | 二重異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVSSGGSGGGGS DIVMTQTPSLPVTLGQPASISCKSSOSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSSIYWPWTFGQGTKEIK |
| 411 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 412 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | VH CDR2 | aa | WIIYFASGNSEYNQKFTG |
| 413 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |
| 414 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 415 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 416 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | VL CDR3 | aa | SQSTYPEFT |
| 417 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | VL | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVSS |
| 418 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | VL | aa | DIVMTQTPSLPVTLGQPASISCKSSOSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTYPEFTFGQGTKEIK |
| 419 | BCMA-42 | BC 7A4 96-D4-E7 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYDWYFDVWGQGTMVTVSSGGSGGGGS DIVMTQTPSLPVTLGQPASISCKSSOSLVHSNGNTYLHWYLOKPGQSPQLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSTYPEFTFGQGTKEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|------------------------------|---------|----|---|
| 420 | BCMA-42 HL x CD3 HL | BC 7A4 96-D4-A7 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDDYYINWVRQAPGQGLIEMGMWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD4-A12 QPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ DIVMTQTPLSLPVTLKISRVEADVGVYCSQSTYPEFTFGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYCSQSSTAAPWTFQGQSPQ SLKLSCAASGFTENKYAMMWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNI KTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYMGQGTLVTVSSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSL TVSPGGTVTLCGSSTGAUTSGNYPNWQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRMWVEGGTKLTVL |
| 421 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 422 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | VH CDR2 | aa | W1YFASGNSEYNQKFTG |
| 423 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | VH CDR3 | aa | LYDYDWTYFDV |
| 424 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 425 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 426 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | VL CDR3 | aa | SQSSTAPWT |
| 427 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDDYYINWVRQAPGQGLIEMGMWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD4-A12 QPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ DIVMTQTPLSLSVTPQGQPA SISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ SGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYCSQSSTAAPWTFQGQGTKEIK |
| 428 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | VL | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDDYYINWVRQAPGQGLIEMGMWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD4-A12 QPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ DIVMTQTPLSLSVTPQGQPA SISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ SGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYCSQSSTAAPWTFQGQGTKEIK |
| 429 | BCMA-43 | BC 7A4 96-F4-A12 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDDYYINWVRQAPGQGLIEMGMWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD4-A12 QPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ DIVMTQTPLSLSVTPQGQPA SISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ SGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYCSQSSTAAPWTFQGQGTKEIK |
| 430 | BCMA-43 HL x CD3 HL | BC 7A4 96-F4-A12 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSEFPDDYYINWVRQAPGQGLIEMGMWIYFASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSISTAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD4-A12 QPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ DIVMTQTPLSLSVTPQGQPA SISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYQKPGQSPQ SGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYCSQSSTAAPWTFQGQGTKEIK SLKLSCAASGFTENKYAMMWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNI KTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYMGQGTLVTVSSGGGSGGGGSQTVVVTQEPSL TVSPGGTVTLCGSSTGAUTSGNYPNWQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRMWVEGGTKLTVL |

| | | | | | SGVQPEDAEAYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
|------------|---------------------|-----------------------------|---------|---------|--|
| 431 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 432 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | VH CDR2 | aa | WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 433 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |
| 434 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | VL CDR1 | aa | KSSQLVHSNGNTYLH |
| 435 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 436 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | VL CDR3 | aa | SQSSIYPWT |
| 437 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | VL | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VIMTRDTISI STAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYYCQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFR |
| 438 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | scFv | aa | DIVMTQTPLSLSVTPGPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHMYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSSIIYCPWTFGQGTKLEIK |
| 439 | BCMA-44 | BC 7A4 96-F4-D7 | | aa | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VIMTRDTISI STAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYYCQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFR DIVMTQTPLSLSVTPGPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHMYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSSIIYCPWTFGQGTKLEIK |
| 440 | BCMA-44 HL x CD3 HL | BC 7A4 96-F4-D7 HL x CD3 HL | | 二重特異性分子 | QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNQKFTGR VIMTRDTISI STAYMELSSLRSEDTAVYFCASLYDYYCQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFR DIVMTQTPLSLSVTPGPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHMYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQSSIIYCPWTFGQGTKLEIK SIKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRIGNFQNSYISYWAYWGQGTLTVSSGGGGGGGGGSQTVVVQEPSSL TVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTSGNYPNWQQKPGQAPRLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDAEAYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 441 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 442 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | VH CDR2 | aa | WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 443 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |

| | | | | | |
|------------|---------------------|-----------------------------|---------|----|---|
| 444 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYIH |
| 445 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 446 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | VL CDR3 | aa | SQS TYPE FFT |
| 447 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFPDDYYINWVRQAPGQGLEWMWIYFASGNSEYNOQKFTGR VTMTRDTISI STAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD D WYD WYD VDW QG QTM VTVSSGGGS GG GGS SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS STYPE PEFTFGQGT KLE IK |
| 448 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | VL | aa | DIVMTQTPLSLSVT PGPQ P ASI SCKS Q S L VHSNGNTY LH WYL QKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS STYPE PEFTFGQGT KLE IK |
| 449 | BCMA-45 | BC 7A4 96-F4-E7 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFPDDYYINWVRQAPGQGLEWMWIYFASGNSEYNOQKFTGR VTMTRDTISI STAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD D WYD WYD VDW QG QTM VTVSSGGGS GG GGS DIVMTQTPLSLSVT PGPQ P ASI SCKS Q S L VHSNGNTY LH WYL QKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS STYPE PEFTFGQGT KLE IK |
| 450 | BCMA-45 HL x CD3 HL | BC 7A4 96-F4-E7 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFPDDYYINWVRQAPGQGLEWMWIYFASGNSEYNOQKFTGR VTMTRDTISI STAYMELSSLRSED TAVYFCASLYD D WYD WYD VDW QG QTM VTVSSGGGS GG GGS DIVMTQTPLSLSVT PGPQ P ASI SCKS Q S L VHSNGNTY LH WYL QKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCSQS STYPE PEFTFGQGT KLE IK SIKLSCCAASGFTENKYAMNNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTFTLSRDDS KNTAYL QMN N LKTED TAVYCYCRHGNF GNS YIS YWAY WQG QTL VTVSSGGGS GG GGS QTVT QEP SL TVSPGGT VTLICGSSTIGAVTS GNY PWN VQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT SGVQPEDEA EYYC VLVWSN RWV FGGT KLT V |
| 451 | BCMA-46 | BC 7A4 96-G2-A12 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 452 | BCMA-46 | BC 7A4 96-G2-A12 | VH CDR2 | aa | W1YFASGNSEYNEKFTIG |
| 453 | BCMA-46 | BC 7A4 96-G2-A12 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |
| 454 | BCMA-46 | BC 7A4 96-G2-A12 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYIH |
| 455 | BCMA-46 | BC 7A4 96-G2-A12 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 456 | BCMA-46 | BC 7A4 96-G2-A12 | VL CDR3 | aa | SQS STAP WT |
| 457 | BCMA-46 | BC 7A4 96-VH | | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFPDDYYINWVRQAPGQGLEWMWIYFASGNSEYNEKFTGR |

| | | | | | |
|-----|---------------------|------------------------------|---------|----|---|
| | | G2-A12 | | | VTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWQGQTMVTVSS |
| 458 | BCMA-46 | BC 7A4 96-G2-A12 | VL | aa | DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 459 | BCMA-46 | BC 7A4 96-G2-A12 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 460 | BCMA-46 HL x CD3 HL | BC 7A4 96-G2-A12 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 461 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | VH CDR1 | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 462 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | VH CDR2 | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 463 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | VH CDR3 | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 464 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | VL CDR1 | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 465 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | VL CDR2 | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 466 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | VL CDR3 | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 467 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 468 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | VL | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |
| 469 | BCMA-47 | BC 7A4 96-G2-D7 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKP GASVVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGOGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFTGRVTMTRDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYFCASILYDYDWWF DVWQGQTMVTVSSGGGS GGSSGGGS DIVMTQTPLSISVSLGQPASIISCKSSQSLVHSNNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLIYKVSNRFSGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAAEDVGVYCSQSSTAPWTFQGTKLEIK |

| | | | | |
|-----|---------------------|---|---------|---|
| | | | | SGSSGTDFTLKIISRVEAEDVGVYCSQSSIYPWTFGQGTKLEIK |
| 470 | BCMA-47 HL x CD3 HL | BC 7A4 96- G2-D7 HL x CD3 HL 二重特異性分子 | | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFITGR VTMTRDTISSLRSEDTAVYFCASLYDYDWWYFDWVGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGGSGGGGS DIVMTQTPPLSISVLGQPASIISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPOLLITYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKIISRVEAEDVGVYCSQSSIYPWTFGQGTKLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGG SLKLSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWVARSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYCCVRHGNFGNSYISYWAYWQGOTLTVSSGGGSGGGGSGGGSQTVVTQEPSL TVSPGGTVTLLCGSSIGAVTSGNYPNWWQQRKGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSILLGGKAALTL SGVQPEDAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 471 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | VH CDR1 | aa DYYIN |
| 472 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | VH CDR2 | aa WIVFASGNSEYNEKFITG |
| 473 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | VH CDR3 | aa LYDYDWYFDV |
| 474 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | VL CDR1 | aa KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 475 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | VL CDR2 | aa KVSNRFS |
| 476 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | VL CDR3 | aa SQSTTYPEFT |
| 477 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | VH | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFITGR VTMTRDTISSLRSEDTAVYFCASLYDYDWWYFDWVGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGGSGGGGS |
| 478 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | VL | aa DIVMTQTPPLSISVLGQPASIISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPOLLITYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKIISRVEAEDVGVYCSQSTYPEFTFGQGTKLEIK |
| 479 | BCMA-48 | BC 7A4 96- G2-E7 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFDPYYINWVRQAPGQGLEWMGWIYFASGNSEYNEKFITGR VTMTRDTISSLRSEDTAVYFCASLYDYDWWYFDWVGQGTMVTVSSGGGSGGGGSGGGSGGGGS |
| 480 | BCMA-48 HL x CD3 HL | BC 7A4 96- G2-E7 HL x CD3 HL 二重特異性分子 | | aa DIVMTQTPPLSISVLGQPASIISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPOLLITYKVSNRFSGVPDFR SGSGSGTDFTLKIISRVEAEDVGVYCSQSTYPEFTFGQGTKLEIK |

| | | | |
|-----|------------------------|-------------------------------------|---|
| | | | QMNNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSSL SGVQFPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 481 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | VH CDR1 aa DYYIN |
| 482 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | VH CDR2 aa WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 483 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | VH CDR3 aa LYDIDWYEDV |
| 484 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | VL CDR1 aa KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 485 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | VL CDR2 aa KVSNRFS |
| 486 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | VL CDR3 aa SQSSTAPWT |
| 487 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | VH aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYSFPDDYYINWVROAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSINTAYMELSSLTSED TAVYFCASLYDQSPQPLIYKVSNRFSGVPMVTVS |
| 488 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | VL aa DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPQSPQPLIYKVSNRFSGVPMVDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIIYYCSQSSTAPWTFGQQGTKEIK |
| 489 | BCMA-49 | BC 7A4 97- A3-A12 | scFv aa QVQLVQSGAEVKKPGASVKSCKASGYSFPDDYYINWVROAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VTMTRDTSINTAYMELSSLTSED TAVYFCASLYDQSPQPLIYKVSNRFSGVPMVTVS DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPQSPQPLIYKVSNRFSGVPMVDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIIYYCSQSSTAPWTFGQQGTKEIK |
| 490 | BCMA-49 HL x CD3 HL | BC 7A4 97- A3-A12 HL x CD3 HL | 二重特異性 aa QMNNILKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSSL TVSPFGTTLTCGSSTGAVTSGNYPNQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGLLGGKAALTL SGVQFPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 491 | BCMA-50 | BC 7A4 97- A3-D7 | VH CDR1 aa DYYIN |
| 492 | BCMA-50 | BC 7A4 97- A3-D7 | VH CDR2 aa WIYFASGNSEYNQKFTG |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|---|
| 493 | BCMA-50 | BC 7A4 97-A3-D7 | VH CDR3 | aa | LYDYDMDYFDV |
| 494 | BCMA-50 | BC 7A4 97-A3-D7 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 495 | BCMA-50 | BC 7A4 97-A3-D7 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 496 | BCMA-50 | BC 7A4 97-A3-D7 | VL CDR3 | aa | SQSSSIYPWT |
| 497 | BCMA-50 | BC 7A4 97-A3-D7 | VH | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVVKVSCKASGYSEFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VIMTRDTISINTAYMELSSLTSEDIVMTQTPPLSLSVTPGQPASIICKSSQSLVHNSNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF |
| 498 | BCMA-50 | BC 7A4 97-A3-D7 | VL | aa | DIVMTQTPPLSLSVTPGQPASIICKSSQSLVHNSNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYCSQSSIIYPWTFGQGTKEIK |
| 499 | BCMA-50 | BC 7A4 97-A3-D7 | scFv | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVVKVSCKASGYSEFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VIMTRDTISINTAYMELSSLTSEDIVMTQTPPLSLSVTPGQPASIICKSSQSLVHNSNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYCSQSSIIYPWTFGQGTKEIK |
| 500 | BCMA-50 HL x CD3 HL | BC 7A4 97-A3-D7 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGAEVKKPGASVVKVSCKASGYSEFPDYYINWVRQAPGQGLEWMGWIFYASGNSEYNQKFTGR VIMTRDTISINTAYMELSSLTSEDIVMTQTPPLSLSVTPGQPASIICKSSQSLVHNSNGNTYLHWYLOQPKGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGIYCSQSSIIYPWTFGQGTKEIK SLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSCKNTAYL QMNNLKTEDIVAVYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSL TVSPGGTVTILTGSSTGAUTSGNYPNWQQKPQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSILGGKAALTLSGVQPEDEAEFYCYCIVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 501 | BCMA-51 | BC 7A4 97-A3-E7 | VH CDR1 | aa | DYYIN |
| 502 | BCMA-51 | BC 7A4 97-A3-E7 | VH CDR2 | aa | WIYFASGNSEYNQKFTG |
| 503 | BCMA-51 | BC 7A4 97-A3-E7 | VH CDR3 | aa | LYDYDMDYFDV |
| 504 | BCMA-51 | BC 7A4 97-A3-E7 | VL CDR1 | aa | KSSQSLVHSNGNTYLH |
| 505 | BCMA-51 | BC 7A4 97-A3-E7 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 506 | BCMA-51 | BC 7A4 97- | VL CDR3 | aa | SQSTTYPEFT |

| | | A3-E7 | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|--|
| 507 | BCMA-51 | BC 7A4 97-A3-E7 | VH | aa QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSSFPDDYIINWVRQAPGQGLEWMGIYFASSGNSEYNQKFTGR VTMTRDTISINTAYMELSLTSED TAVYFCASLYD DWFYD WNGQGTMVTVSS |
| 508 | BCMA-51 | BC 7A4 97-A3-E7 | VL | aa DIVMTQIPLSLSVTPGQPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPOLLITYKVSNR-FSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGI YYCSQSTYPEFTFGQGTKLEIK |
| 509 | BCMA-51 | BC 7A4 97-A3-E7 | scFv | aa QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSSFPDDYIINWVRQAPGQGLEWMGIYFASSGNSEYNQKFTGR VTMTRDTISINTAYMELSLTSED TAVYFCASLYD DWFYD WNGQGTMVTVSSGGGGGGGGGGGG DIVMTQIPLSLSVTPGQPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPOLLITYKVSNR-FSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGI YYCSQSTYPEFTFGQGTKLEIK |
| 510 | BCMA-51 HL x CD3 HL | BC 7A4 97-A3-E7 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYSSFPDDYIINWVRQAPGQGLEWMGIYFASSGNSEYNQKFTGR VTMTRDTISINTAYMELSLTSED TAVYFCASLYD DWFYD WNGQGTMVTVSSGGGGGGGGGGGG DIVMTQIPLSLSVTPGQPASI SCKSSQSLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPOLLITYKVSNR-FSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAE DVGI YYCSQSTYPEFTFGQGTKLEIK SLLKSCAAAGF'IFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARLKSKNNYATYYADSVKDRFLISRDJSKNIAYL QMNNLK1TEDTAVYYCVRHGNFCGNSYTSWAYWGQGTLTVSSGGGGGGGGGGGGGG TVSPGGITVLTCTGSSTGAVTSGNYPNWQOKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDAEYYCVLW-SNRWVF GGTTKLTVL |
| 511 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | VH CDR1 | aa NAWMD |
| 512 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | VH CDR2 | aa QITAKSNINYATYYAEPVKG |
| 513 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | VH CDR3 | aa DGYH |
| 514 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | VL CDR1 | aa RASEDIRNGLA |
| 515 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | VL CDR2 | aa NANSLHT |
| 516 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | VL CDR3 | aa RDTTSKYPYTT |
| 517 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | VH | aa EVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAAASGF-FSNAAMDWVRQAPGKRLEWAQITAKSNNYATYYAEPVK GRFTISRDDSRTNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTDDGYHMGQGTIVTVSS |
| 518 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | VL | aa AIQMTQSPPSSLSASAVGETVTIACRASEDIRNLGLAWYQQKPGKAPKLIIYANSLHTGVP SRFSGSGS GTEFTLKRISLQPEDEATYYCEDTSKPYTPE |

| | | | | | |
|-----|---------------------|------------------------------|---------|----|--|
| 519 | BCMA-52 | BC E11 19-F11-F8 | scFv | aa | EVOLVESGGGLVKPGESIIRLSCAASGFTFSNAMMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKEDTAVYCYCTDDGYHMGQGTLYTVSSGGSGGGGGSAIQM TQSPSSLASVGETVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVPSRFSGSGSGETF TLKISSLQPEDEATYYCETSKYPYTFQGTKEIK |
| 520 | BCMA-52 HL x CD3 HL | BC E11 19-F11-F8 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVOLVESGGGLVKPGESIIRLSCAASGFTFSNAMMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKEDTAVYCYCTDDGYHMGQGTLYTVSSGGSGGGGGSAIQM TQSPSSLASVGETVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLLIYNANSLHTGVPSRFSGSGSGETF TLKISSLQPEDEATYYCETSKYPYTFQGTKEIK |
| 521 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | VH CDR1 | aa | NAMMD |
| 522 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | VH CDR2 | aa | QITAKSNNYATYYAAPVKG |
| 523 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | VH CDR3 | aa | DGYH |
| 524 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | VL CDR1 | aa | RASEDIRNGLA |
| 525 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | VL CDR2 | aa | NANSLHS |
| 526 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | VL CDR3 | aa | EDTSKYPYT |
| 527 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | VH | aa | EVOLVESGGGLVKPGESIIRLSCAASGFTFSNAMMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKEDTAVYCYCTDDGYHMGQGTLYTVSS |
| 528 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | VL | aa | AIQMTQSPSSILSASVGDRVTIKCRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLLIYNANSLHSGVPSRFSGSGS GTDFLTISSMQPEDEGTYYCETSKYPYTEFGQGTKEIK |
| 529 | BCMA-53 | BC E11 19-G3-F8 | scFv | aa | EVOLVESGGGLVKPGESIIRLSCAASGFTFSNAMMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKEDTAVYCYCTDDGYHMGQGTLYTVSSGGSGGGGGSAIQM TQSPSSLASVGETVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLLIYNANSLHSGVPSRFSGSGSGETF TLTISSMQPEDEGTYYCETSKYPYTFQGTKEIK |
| 530 | BCMA-53 HL x CD3 HL | BC E11 19-G3-F8 HL | 二重特異性分子 | aa | EVOLVESGGGLVKPGESIIRLSCAASGFTFSNAMMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKEDTAVYCYCTDDGYHMGQGTLYTVSSGGSGGGGGSAIQM |

| | | | | |
|------------|------------------------|-----------------------------------|-------------|--|
| | | x CD3 HL | | TQSPSSLSASVGDRVTIKCRASEDIRNLGLAWYQQKPGKAPKLIYANANSLHSGVPSRFSGSGSTDF TILTISSMQPEDEGTYCETSKYPYTFQGTGLEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTTISRDDSKNTAYLQMNMLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLTVSSGGGSGGGSGGGSGTQEPSTLTVSFEGGTVT LTGSSTGAUTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEA EYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 531 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | VH CDR1 | aa NAWMD |
| 532 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | VH CDR2 | aa QITAKSNNYATYYAAPVKKG |
| 533 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | VH CDR3 | aa DGYH |
| 534 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | VL CDR1 | aa RASEDIRNGLA |
| 535 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | VL CDR2 | aa NANSLHT |
| 536 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | VL CDR3 | aa EDTSKYPYT |
| 537 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | VH | aa EVQLEVEGGGLVKPGESLRILSCAAASGFTFSNAWMWDWVRQAPGKRLEWIQAQTAKSNNYATYYAAPVK GRFTTISRDDSNTLYLQMNSLKKEDTAVYYCTDDGQHNGQTLTVSS |
| 538 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | VL | aa AIQMTQSPPSSLASVGDRVTIACRASEDIRNLGLAWYQQKPGKAPKLIYANANSLHTGVPSRFSGGSGS GTDFTLTISSLQPEDEAIYYCEDTSKYPYTFQGTKLIEIK |
| 539 | BCMA-54 | BC E11 19-B2-F8 | scFv | aa EVQLEVEGGGLVKPGESLRILSCAAASGFTFSNAWMWDWVRQAPGKRLEWIQAQTAKSNNYATYYAAPVK GRFTTISRDDSNTLYLQMNSLKKEDTAVYYCTDDGQHNGQTLTVSSGGGGGGGGGGSAIQM TQSPPSSLASVGDRVTIACRASEDIRNLGLAWYQQKPGKAPKLIYANANSLHTGVPSRFSGGSGTDF TILTISSLQPEDEAIYYCEDTSKYPYTFQGTKLIEIK |
| 540 | BCMA-54 HL x CD3 HL | BC E11 19-B2-F8 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa EVQLEVEGGGLVKPGESLRILSCAAASGFTFSNAWMWDWVRQAPGKRLEWIQAQTAKSNNYATYYAAPVK GRFTTISRDDSNTLYLQMNSLKKEDTAVYYCTDDGQHNGQTLTVSSGGGGGGGGGGSAIQM TQSPPSSLASVGDRVTIACRASEDIRNLGLAWYQQKPGKAPKLIYANANSLHTGVPSRFSGGSGTDF TILTISSLQPEDEAIYYCEDTSKYPYTFQGTKLIEIK GFTFNKYAMNWVRQAPGKRLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTTISRDDSKNTAYLQMNMLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLTVSSGGGSGGGSGGGSGTQEPSTLTVSFEGGTVT LTGSSTGAUTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTFKLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEA EYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 541 | BCMA-55 | BC E11 20-H9-F9 | VH CDR1 | aa NAWMD |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|----------|----|--|
| 542 | BCMA-55 | BC E11-20-H9-E9 | VH CDR2 | aa | QITAKSNNYATYYAAPVKG |
| 543 | BCMA-55 | BC E11-20-H9-E9 | VH CDR3 | aa | DGYH |
| 544 | BCMA-55 | BC E11-20-H9-E9 | VL CDR1 | aa | RASEDIRNGLA |
| 545 | BCMA-55 | BC E11-20-H9-E9 | VL CDR2 | aa | NANSLHT |
| 546 | BCMA-55 | BC E11-20-H9-E9 | VL CDR3 | aa | EETLKYPT |
| 547 | BCMA-55 | BC E11-20-H9-E9 | VH | aa | EVQLVESEGGSLVKGPGSLRLSCAASGFTFSNAWMDWVRQAPGKRLEWAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSNTLYLQMNLSKEEDTAVYYCTDDGYHWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSAAIQM |
| 548 | BCMA-55 | BC E11-20-H9-E9 | VL | aa | AIQMTQSPPSSLASAVGDRVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSNLHTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISNLQPEDEATYYCEETLKYPYTFQGQTKLEIK |
| 549 | BCMA-55 | BC E11-20-H9-E9 | scFv | aa | EVQLVESEGGSLVKGPGSLRLSCAASGFTFSNAWMDWVRQAPGKRLEWAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSNTLYLQMNLSKEEDTAVYYCTDDGYHWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSAAIQM TQSPPSSLASAVGDRVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSNLHTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISNLQPEDEATYYCEETLKYPYTFQGQTKLEIK |
| 550 | BCMA-55 HL x CD3 HL | BC E11-20-H9-E9 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa | EVQLVESEGGSLVKGPGSLRLSCAASGFTFSNAWMDWVRQAPGKRLEWAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSNTLYLQMNLSKEEDTAVYYCTDDGYHWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSAAIQM TQSPPSSLASAVGDRVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSNLHTGVPSRFSGSGS GTDFTLTISNLQPEDEATYYCEETLKYPYTFQGQTKLEIK GFTENKYAMNWVROAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLLVTYSSGGGGSGGGSGGGSQTYVTOEPSLTVSPEGTVT LTGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGTLFLAPGTPARFSGSLLGKAAALTLSGVQPEDEA EYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 551 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | VH CDR1 | aa | NAMMD |
| 552 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | VH CDR2 | aa | QITAKSNNYATYYAAPVKG |
| 553 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | VH CDR3 | aa | DGYH |
| 554 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | VL CDR1 | aa | RASEDIRNGLA |
| 555 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | VL CDR2 | aa | NANSLHT |

| | | | | | |
|-----|---------------------|------------------------------|---------|----|--|
| | | F11-E9 | | | |
| 556 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | VL CDR3 | aa | EETLKYPY |
| 557 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | VH | aa | EVQLVESGGGLVKGESLRSCAASGFTFSNAAMDWVRQAPGKRLEWAQITAKSNNYATYYAEPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTDDGYHWGQGTLTVVSS |
| 558 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | VL | aa | AIQMTQSPLSSLASAVGETVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLSLHTGVPSRFSGSGS GTEFTLKISSLQPEDEATYYCEETLKYPYTFQGQGTKEIK |
| 559 | BCMA-56 | BC E11-19-F11-E9 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVKGESLRSCAASGFTFSNAAMDWVRQAPGKRLEWAQITAKSNNYATYYAEPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTDDGYHWGQGTLTVVSSGGGGSGGGGGSAIQM TQSPLSSLASAVGETVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLSLHTGVPSRFSGSGS TLLKISSLQPEDEATYYCEETLKYPYTFQGQGTKEIK |
| 560 | BCMA-56 HL x CD3 HL | BC E11-19-F11-E9 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLVESGGGLVKGESLRSCAASGFTFSNAAMDWVRQAPGKRLEWAQITAKSNNYATYYAEPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTDDGYHWGQGTLTVVSSGGGGSGGGGGSAIQM TQSPLSSLASAVGETVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLSLHTGVPSRFSGSGS TLLKISSLQPEDEATYYCEETLKYPYTFQGQGTKEIK GFTENKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTTISRDDSKNTAYLQMN TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLTVVSSGGGGSGGGGSQTVTQEPSILTVPSPGGT LTGSSSTGAVTSGNYPNPWNVQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGKAALTLSGVQ PEDEAEYCYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 561 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | VH CDR1 | aa | NAMMD |
| 562 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | VH CDR2 | aa | QITAKSNNYATYYAAPVKG |
| 563 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | VH CDR3 | aa | DGYH |
| 564 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | VL CDR1 | aa | RASEDIRNGLA |
| 565 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | VL CDR2 | aa | NANSLHT |
| 566 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | VL CDR3 | aa | EETLKYPY |
| 567 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | VH | aa | EVQLVESGGGLVKGESLRSCAASGFTFSNAAMDWVRQAPGKRLEWAQITAKSNNYATYYAEPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTDDGYHWGQGTLTVVSS |
| 568 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | VL | aa | AIQMTQSPLSSLASAVGETVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLSLHTGVPSRFSGSGS |

| | | | | | GTDFTLTISLQPEDEAIYYCEETLKYPYTFQQGTKEIK |
|------------|---------------------|-----------------------------|---------|----|--|
| 569 | BCMA-57 | BC E11-19-B2-E9 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSNAWMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKKEDTAVYCTDDGYHWQGTIVSSGGGGSGGGSGGGSAIQM TQSPESSLASVGDRVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLHTGVPSRFSGSGSTDF TLTISLQPEDEAIYYCEETLKYPYTFQQGTKEIK |
| 570 | BCMA-57 HL x CD3 HL | BC E11-19-B2-E9 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSNAWMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKKEDTAVYCTDDGYHWQGTIVSSGGGGSGGGSGGGSAIQM TQSPESSLASVGDRVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLHTGVPSRFSGSGSTDF TLTISLQPEDEAIYYCEETLKYPYTFQQGTKEIK |
| 571 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | VH CDR1 | aa | NAWMD |
| 572 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | VH CDR2 | aa | QITAKSNNYATYYAAPVKG |
| 573 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | VH CDR3 | aa | DGYH |
| 574 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | VL CDR1 | aa | RASEDIRNGLA |
| 575 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | VL CDR2 | aa | NANSLHS |
| 576 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | VL CDR3 | aa | EETLKYPY |
| 577 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | VH | aa | EVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSNAWMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKKEDTAVYCTDDGYHWQGTIVSSGGGGSGGGSGGGSAIQM TQSPESSLASVGDRVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLHTGVPSRFSGSGSTDF TLTISLQPEDEAIYYCEETLKYPYTFQQGTKEIK |
| 578 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | VL | aa | AIQMTQSPSSLSASVGDRVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLHSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDEGTYCCEETLKYPYTFQQGTKEIK |
| 579 | BCMA-58 | BC E11-19-G3-E9 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSNAWMDWVRQAPGKRLEWIAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKKEDTAVYCTDDGYHWQGTIVSSGGGGSGGGSGGGSAIQM TQSPESSLASVGDRVTIACRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLIIYNANSLHTGVPSRFSGSGSTDF TLTISLQPEDEGTYCCEETLKYPYTFQQGTKEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|--|
| 580 | BCMA-58 HL x CD3 HL | BC E11-19-G3-E9 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQVYESGGGVVQPKGESEIIRLSCAASGFTFSNAWMDMVRQAPGKRLIEWTAQITAKSNNYATYYAAPVK GRFTISRDDSKNTLYQMNSLKKEDTAVYYCTDDGYHWGQGTIVTVSSGGGSGGGGSAIQM TQSPPSSASVGDRVTIKCRASEDIRNGLAWYQQKPGKAPKLLIYNANSLHSGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSMQPEDEGTYCEETLKYPYTFQGQTKLEIKSGGGSEYQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFINKYAMNWVRQAPGKGLEWARISSKYNNTATYYZADSVKDRTTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLTVTVSSGGGSGGGSQTVVTOQEPSLTVSPGGTVT LTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTIKFLAPGTPARFSGSLLLGKAALTLSGVQPEDEA EYYCVVLWYSNRWVEGGTKLTVL |
| 581 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | VH CDR1 | aa | NYDMA |
| 582 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | VH CDR2 | aa | SIITSGGDNYYRDSVKG |
| 583 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | VH CDR3 | aa | HDYYDGSYGFAY |
| 584 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | VL CDR1 | aa | KASQSVGINVD |
| 585 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | VL CDR2 | aa | GASN RHT |
| 586 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | VL CDR3 | aa | LQYGSIPFT |
| 587 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | VH | aa | QVQLVESPAGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKGR FTISRDNNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGQTLTVVSSGGGGGGGG FTIIVMTQSPASMSVSPGERATLSCKASQSVGINWDYQQKPGQAPRLLIYGASN RHTGIPARFSGS |
| 588 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | VL | aa | EIVMTQSPASMSVSPGERATLSCKASQSVGINWDYQQKPGQAPRLLIYGASN RHTGIPARFSGS GTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOYGSIPFTFGPTKVDIK |
| 589 | BCMA-59 | BC 5G9-91-D2 | scFv | aa | QVQLVESPAGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKGR FTISRDNNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGQTLTVVSSGGGGGGGG GSEIVMTQSPASMSVSPGERATLSCKASQSVGINWDYQQKPGQAPRLLIYGASN RHTGIPARFSGS GSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOYGSIPFTFGPTKVDIK |
| 590 | BCMA-59 HL x CD3 HL | BC 5G9-91-D2 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVESPAGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKGR FTISRDNNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGQTLTVVSSGGGGGGGG GSEIVMTQSPASMSVSPGERATLSCKASQSVGINWDYQQKPGQAPRLLIYGASN RHTGIPARFSGS GSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOYGSIPFTFGPTKVDIK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMN NIKTEDTAVYYCVRHGNFTGNSYISYWAYWQGQTLTVVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG PGGTVTLLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV |

| | | | | |
|-----|---------------------|--------------------------|-------------|--|
| | | | | QPEDDEAEEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 591 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | VH CDR1 | aa NYDMA |
| 592 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | VH CDR2 | aa SIITSGGDNYYRDSVKG |
| 593 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | VH CDR3 | aa HDYYDGSYGFAY |
| 594 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | VL CDR1 | aa KASQSVGINVD |
| 595 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | VL CDR2 | aa GASNRHT |
| 596 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | VL CDR3 | aa LQYGS1PFT |
| 597 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | VH | aa QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKG FTISRDNSKN1LYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GREFTLTISLQSEDFAVYYCLQYGS1PFTGP GTKVMDIK |
| 598 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | VL | aa EIVMTQSPATLSSPGERVTLSCAKASQSVGINVDWYQOKPQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGS |
| 599 | BCMA-60 | BC 5G9-91-C7 | scFv | aa QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKG FTISRDNSKN1LYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSEIIVMTQSPATLSSPGERVTLSCAKASQSVGINVDWYQOKPQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGS |
| 600 | BCMA-60 HL x CD3 HL | BC 5G9-91-C7 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKG FTISRDNSKN1LYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GSEIIVMTQSPATLSSPGERVTLSCAKASQSVGINVDWYQOKPQAPRLLIYGASNRTGIPARFSGS GSGREFLTLISSLQSEDFAVYYCLQYGS1PFTGP GTKVMDIK NLKIEDTAVYYCVRHGNFGNSYIISYWAYMGOGLTVTVSSGGGGSGGG PGGTIVTLCGSSTGAVTSGNYPNWNQQKPQOAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLIGGKAALTLSGV QPEDDEAEEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 601 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | VH CDR1 | aa NYDMA |
| 602 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | VH CDR2 | aa SIITSGGDNYYRDSVKG |
| 603 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | VH CDR3 | aa HDYYDGSYGFAY |

| | | | | | |
|-----|---------------------|--------------------------|---------|----|---|
| 604 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | VL CDR1 | aa | KASQSVGIVND |
| 605 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | VL CDR2 | aa | GASN RHT |
| 606 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | VL CDR3 | aa | LQYGS1PFT |
| 607 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | VH | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKGR FTISRDNSKNLYLQMNSLRS ETD TAVYCCVRLHDYYDGSYGFAYWQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGG |
| 608 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | VL | aa | EIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASN RHTGIPARFSGSGS GTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOQGS1PFTFGPGTKVDIK |
| 609 | BCMA-61 | BC 5G9-91-E4 | scFv | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKGR FTISRDNSKNLYLQMNSLRS ETD TAVYCCVRLHDYYDGSYGFAYWQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGG GSEIIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASN RHTGIPARFSGSGS GSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOQGS1PFTFGPGTKVDIK |
| 610 | BCMA-61 HL x CD3 HL | BC 5G9-91-E4 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKGR FTISRDNSKNLYLQMNSLRS ETD TAVYCCVRLHDYYDGSYGFAYWQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGG GSEIIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGASN RHTGIPARFSGSGS GSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCLOQGS1PFTFGPGTKVDIK LSCAAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWA YNGQGT LTVSSGGGSGGGGSGQVTLQEP SLTVS PGGTVTLTCGSSTGA VTS GNYPNWVQ QKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGKAAALTLSGV QPEDEAEYYC VLMWSNRWVFGGTKLTVL |
| 611 | BCMA-62 | BC 5G9-92-E10 | VH CDR1 | aa | NYDMA |
| 612 | BCMA-62 | BC 5G9-92-E10 | VH CDR2 | aa | SIITSGGDNYYRDSVKG |
| 613 | BCMA-62 | BC 5G9-92-E10 | VH CDR3 | aa | HDYYDGSYGFAY |
| 614 | BCMA-62 | BC 5G9-92-E10 | VL CDR1 | aa | KASQSVGIVND |
| 615 | BCMA-62 | BC 5G9-92-E10 | VL CDR2 | aa | GASN RHT |
| 616 | BCMA-62 | BC 5G9-92-E10 | VL CDR3 | aa | LQYGS1PFT |
| 617 | BCMA-62 | BC 5G9- | VH | aa | QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVASIITSGGDNYYRDSVKGR |

| | | | | | |
|------------|---------------------|---------------------------|---------|----|---|
| | | 92-E10 | | | FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGTLVTVSS |
| 618 | BCMA-62 | BC 5G9-92-E10 | VL | aa | EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGA SNTGIPARFSGSGS |
| 619 | BCMA-62 | BC 5G9-92-E10 | scFv | aa | QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWASI ITSGGDNYYRDSVKGR |
| 620 | BCMA-62 HL x CD3 HL | BC 5G9-92-E10 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGTLV TSSGG GSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGA SNTGIPARFSGSGS |
| 621 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VH CDR1 | aa | QVQLVESGGVVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWASI ITSGGDNYYRDSVKGR |
| 622 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VH CDR2 | aa | FTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHDYYDGSYGFAYWQGTLV TSSGG GSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVGINVDWYQQKPGQAPRLLIYGA SNTGIPARFSGSGS |
| 623 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VH CDR3 | aa | GSGTEFTLTISLQAEDFAVYYCLQYGSIPIFEGPGTKVDIK |
| 624 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VH CDR1 | aa | LSCAASGFTFNKYAMNWWQRQAPGKGLEWAVIRSKYNNYATYYADSVK NLKTEDTAVYYCVRHGNEGNSTSYWAYWQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGG PGGTVTLCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARF QPEDAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 625 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VL CDR2 | aa | NYDMA |
| 626 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VL CDR3 | aa | SISTRGDITSYRDSVKG |
| 627 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VH | aa | QDYYTDYMGFA |
| 628 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VL | aa | RASEDIYNGLA |
| 629 | BCMA-63 | BC 3A4-37-C8 | VL | aa | GASSLQD |
| | | | | | QOSYKYPLT |
| | | | | | AIQMTQSPSSLASVGDITVITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGA SNTLQDGVPSSRFSGSGS |
| | | | | | GTDYLTISLQPEDEATYCCQSYKYPLTFGGTKVEIK |
| | | | | | EVQELLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEW SSGG FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFA GSATQMTQSPSSLSASVGDTVTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGA SNTLQDGVPSSRFSGSGS |

| | | | | | | | |
|-----|------------------------|----------------------------------|---------|-------------|--|--|--|
| | | | | | | | |
| 641 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | VH CDR1 | aa | NYDMA | | |
| 642 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | VH CDR2 | aa | SISTRGDIRTSYRDSVKG | | |
| 643 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | VH CDR3 | aa | QDYYTDYMGFAY | | |
| 644 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | VL CDR1 | aa | RASEDIYNGLA | | |
| 645 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | VL CDR2 | aa | GASSLQD | | |
| 646 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | VL CDR3 | aa | QOSYKYPLT | | |
| 647 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | VL | aa | EYQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWROAPCKGLEWVSSISTRGDIRTSYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWGQGTIVTSSGGGGGGGGGGGGGGGG GSATQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDITYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQDGVPSSRFSGS GSGTHYTLTISLQPEDEATYCCQSYKYPLTFGGGTKEIK | | |
| 648 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | VL | aa | EYQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWROAPCKGLEWVSSISTRGDIRTSYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWGQGTIVTSSGGGGGGGGGGGGGGGG GSATQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDITYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQDGVPSSRFSGS GSGTHYTLTISLQPEDEATYCCQSYKYPLTFGGGTKEIK | | |
| 649 | BCMA-65 | BC 3A4-37- E11 | scFv | aa | EYQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWROAPCKGLEWVSSISTRGDIRTSYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWGQGTIVTSSGGGGGGGGGGGGGG GSATQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDITYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQDGVPSSRFSGS GSGTHYTLTISLQPEDEATYCCQSYKYPLTFGGGTKEIK | | |
| 650 | BCMA-65 HL x CD3 HL | BC 3A4-37- E11 HL x CD3 HL | | 二重特異性 分子 | aa | EYQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWROAPCKGLEWVSSISTRGDIRTSYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWGQGTIVTSSGGGGGGGGGGGGGG GSATQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDITYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQDGVPSSRFSGS GSGTHYTLTISLQPEDEATYCCQSYKYPLTFGGGTKEIK | |
| 651 | BCMA-66 | BC 3A4-37- C8-G1 | VH CDR1 | aa | NYDMA | | |
| 652 | BCMA-66 | BC 3A4-37- C8-G1 | VH CDR2 | aa | SISTRGDIRTSYRDSVKG | | |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|--|
| 653 | BCMA-66 | BC 3A4-37-C8-G1 | VH CDR3 | aa | QDYYTDYMGFAY |
| 654 | BCMA-66 | BC 3A4-37-C8-G1 | VL CDR1 | aa | RASEDIYNGLA |
| 655 | BCMA-66 | BC 3A4-37-C8-G1 | VL CDR2 | aa | GASSLQD |
| 656 | BCMA-66 | BC 3A4-37-C8-G1 | VL CDR3 | aa | AGPHKYPLT |
| 657 | BCMA-66 | BC 3A4-37-C8-G1 | VH | aa | EVQLLIESGGGLVQPGGSLRLSCAASAGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCCARQDYYTDYMGFAYWGQGTLVTVSS |
| 658 | BCMA-66 | BC 3A4-37-C8-G1 | VL | aa | AIQMTQSPSSLASAVGDTVTITCRASEDITYNGLAWYQQKPGKAPKLIIYGASSLQDGVPSRFSGSGS GTDYLTISLQPEDAEATYYCAGPHKYPLTGGGTKEIK |
| 659 | BCMA-66 | BC 3A4-37-C8-G1 | scFv | aa | EVQLLIESGGGLVQPGGSLRLSCAASAGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCCARQDYYTDYMGFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGG GSAIQMTQSPSSLASAVGDTVTITCRASEDITYNGLAWYQQKPGKAPKLIIYGASSLQDGVPSRFSGSGS GSGTDYLTISLQPEDAEATYYCAGPHKYPLTGGGTKEIK |
| 660 | BCMA-66 HL x CD3 HL | BC 3A4-37-C8-G1 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLLIESGGGLVQPGGSLRLSCAASAGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYCCARQDYYTDYMGFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGG GSAIQMTQSPSSLASAVGDTVTITCRASEDITYNGLAWYQQKPGKAPKLIIYGASSLQDGVPSRFSGSGS GSGTDYLTISLQPEDAEATYYCAGPHKYPLTGGGTKEIK |
| 661 | BCMA-67 | BC 3A4-37-E11-G1 | VH CDR1 | aa | NYDMA |
| 662 | BCMA-67 | BC 3A4-37-E11-G1 | VH CDR2 | aa | SISTRGDITSYRDSVKGR |
| 663 | BCMA-67 | BC 3A4-37-E11-G1 | VH CDR3 | aa | QDYYTDYMGFAY |
| 664 | BCMA-67 | BC 3A4-37-E11-G1 | VL CDR1 | aa | RASEDIYNGLA |
| 665 | BCMA-67 | BC 3A4-37-E11-G1 | VL CDR2 | aa | GASSLQD |
| 666 | BCMA-67 | BC 3A4-37- | VL CDR3 | aa | AGPHKYPLT |

| | | | E11-G1 | | |
|------------|---------------------|------------------------------|---------|----|---|
| 667 | BCMA-67 | BC 3A4-37-E11-G1 | VH | aa | EYQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDGVKGR FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGT LVTVSS |
| 668 | BCMA-67 | BC 3A4-37-E11-G1 | VL | aa | AIQMTQS PSSLSASVGDRV TITCRASED IYNGLA WYQQPKG KAPKLLI YGASS LQDGVP SRFSGGS GTHYTLT ISSLQPEDEATY CAGPHKYPLTFGGGT KVEIK |
| 669 | BCMA-67 | BC 3A4-37-E11-G1 | scFv | aa | EYQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDGVKGR FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGT LVTVSSGGGGGGGGGG GSAIQMTQS PSSLSASVGDRV TITCRASED IYNGLA WYQQPKG KAPKLLI YGASS LQDGVP SRFSGGS GSGTHYTLT ISSLQPEDEATY CAGPHKYPLTFGGGT KVEIK |
| 670 | BCMA-67 HL x CD3 HL | BC 3A4-37-E11-G1 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EYQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDGVKGR FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGT LVTVSSGGGGGGGGGG GSAIQMTQS PSSLSASVGDRV TITCRASED IYNGLA WYQQPKG KAPKLLI YGASS LQDGVP SRFSGGS GSGTHYTLT ISSLQPEDEATY CAGPHKYPLTFGGGT KVEIK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NIKTEDTA VYYCVRHGNFGNSYI SYWAYWQGT LVTVSSGGGGGGSQT VVTQEP SLT V S PGGT VTL TCGS STGAV TSGN YPNWVQ QKPG QAPRGLI GGT KFLAPGTPAR FSGS LLGGKAALTLSGV QPEDEAE YCVLWYSNRWVFGGGTKL LT V L |
| 671 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8 G8 | VH CDR1 | aa | NYDMA |
| 672 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8 G8 | VH CDR2 | aa | SISTRGDITSYRDGVKG |
| 673 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8 G8 | VH CDR3 | aa | QDYYTDYMGFA Y |
| 674 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8 G8 | VL CDR1 | aa | RASED IYNGLA |
| 675 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8 G8 | VL CDR2 | aa | GASS LQD |
| 676 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8 G8 | VL CDR3 | aa | QQS RNYQQT |
| 677 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8 G8 | VH | aa | EYQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDGVKGR FTISRDN AKN TLYLQMN SLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGT LVTVSS |
| 678 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8 G8 | VL | aa | AIQMTQS PSSLSASVGDRV TITCRASED IYNGLA WYQQPKG KAPKLLI YGASS LQDGVP SRFSGGS GTDYT LTISSLQPEDEATY CQOSR NYQQT FGGGT KVEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|---------------|--|
| 679 | BCMA-68 | BC 3A4-37-C8-G8 | scFv | aa | EVOILLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTLTVVSSGGGGGGGGGG GSAIQMTQSPSSLSASVGDTVTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGAASSLQDGVPSSRFSGS GSGTDYTLLTISLQPEDAEATYYCQQRNQQTFGGGTKEIK |
| 680 | BCMA-68 HL x CD3 HL | BC 3A4-37-C8-G8 HL x CD3 HL | | aa 二重特異性分子 | EVOILLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTLTVVSSGGGGGGGGGG GSAIQMTQSPSSLSASVGDTVTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGAASSLQDGVPSSRFSGS GSGTDYTLLTISLQPEDAEATYYCQQRNQQTFGGGTKEIK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGTLTVVSSGGGGGGGGGGGGGG PGGTIVLTCTGSSSTGAVTSIGNYPNWQQKPQOAPRGLIGGTKEELAPGTPARESGSLLIGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFFGGTQLTVL |
| 681 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | VH CDR1 | aa | NYDMA |
| 682 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | VH CDR2 | aa | SISTRGDTITSYRDSVKG |
| 683 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | VH CDR3 | aa | QDYYTDYMGFAY |
| 684 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | VL CDR1 | aa | RASEDIYNGLA |
| 685 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | VL CDR2 | aa | GASSLQD |
| 686 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | VL CDR3 | aa | QQSRNYYQT |
| 687 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | VH | aa | EVOILLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTLTVVSS |
| 688 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | VL | aa | AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGAASSLQDGVPSSRFSGS GTHYTLLTISLQPEDAEATYYCQQRNQQTFGGGTKEIK |
| 689 | BCMA-69 | BC 3A4-37-E11-G8 | scFv | aa | EVOILLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTLTVVSSGGGGGGGGGG GSAIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGAASSLQDGVPSSRFSGS GSGTHYTLLTISLQPEDAEATYYCQQRNQQTFGGGTKEIK |
| 690 | BCMA-69 HL x CD3 HL | BC 3A4-37-E11-G8 HL | 二重特異性分子 | aa | EVOILLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTLTVVSSGGGGGGGGGG |

| | | | |
|-----|---------------------------|-------------------------------------|---|
| | x CD3 HL | | GSAIQMTQSPSSLSAVGDRVITITCRASEDIYGLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQDGVPSSRSGS GGTHYTLLTISSLQPEDEATYYCQQSRNYQQTFGGGTKEVIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKL LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGOGLTVTSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTOEPSLTVS PGGTVTLLTCGSSTGAVTSIGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL |
| 691 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 | VH CDR1 aa NYDMA |
| 692 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 | VH CDR2 aa SISTRGDITSYRDSVKG |
| 693 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 | VH CDR3 aa QDYYTDYMGFAV |
| 694 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 | VL CDR1 aa RASEDIYNGLA |
| 695 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 | VL CDR2 aa GASSLQD |
| 696 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 | VL CDR3 aa QQSRNYQQT |
| 697 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 | VH aa EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGOTLTVTSSGGGGSGGGSGGG AIQMTQSPSSL SASVGDRVITITCRASEDIYGLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQDGVPSSRSGSGS GTEFTLTISSLQPEDEATYYCQQSENYYQTFFGGTKEIK |
| 698 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 | VL aa EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGOTLTVTSSGGGGSGGGSGGG GSQTEFTLTISSLQPEDEATYYCQQSRNYQQTFFGGTKEIK |
| 699 | BCMA-70 | BC 3A4-37- A11-G8 scFv | EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGOTLTVTSSGGGGSGGGSGGG GSQTEFTLTISSLQPEDEATYYCQQSRNYQQTFFGGTKEIK |
| 700 | BCMA-70 HL x CD3 HL | BC 3A4-37- A11-G8 HL x CD3 HL | GSQTEFTLTISSLQPEDEATYYCQQSRNYQQTFFGGTKEIK EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGOTLTVTSSGGGGSGGGSGGG GSQTEFTLTISSLQPEDEATYYCQQSRNYQQTFFGGTKEIK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGOGLTVTSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTOEPSLTVS PGGTVTLLTCGSSTGAVTSIGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL |

| | | | | |
|-----|------------------------|-------------------------------------|---------------|---|
| 701 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | VH CDR1 aa | NYDMA |
| 702 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | VH CDR2 aa | SISTRGDITSYRDSVKG |
| 703 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | VH CDR3 aa | QDYYTIDYMGFAY |
| 704 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | VL CDR1 aa | RASEDIYNGLA |
| 705 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | VL CDR2 aa | GASSLQD |
| 706 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | VL CDR3 aa | AGPHKYPLT |
| 707 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | VH aa | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTIVTSSGGGGSGGG GSAIQMTQSPSSLASAVGDRVTTICRASEDIYNGLA GSGTEFTLTISLQPEDAEATYYCAGPHKYPLTFGGTKVEIK |
| 708 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | VL aa | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTIVTSSGGGGSGGG GSAIQMTQSPSSLASAVGDRVTTICRASEDIYNGLA GSGTEFTLTISLQPEDAEATYYCAGPHKYPLTFGGTKVEIK |
| 709 | BCMA-71 | BC 3A4-37- A11-G1 | scFv aa | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTIVTSSGGGGSGGG GSAIQMTQSPSSLASAVGDRVTTICRASEDIYNGLA GSGTEFTLTISLQPEDAEATYYCAGPHKYPLTFGGTKVEIK |
| 710 | BCMA-71 HL x CD3 HL | BC 3A4-37- A11-G1 HL x CD3 HL | 二重特異性 aa | EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYTDYMGFAYWQGTIVTSSGGGGSGGG GSAIQMTQSPSSLASAVGDRVTTICRASEDIYNGLA GSGTEFTLTISLQPEDAEATYYCAGPHKYPLTFGGTKVEIK LSCAAASGFTFNKYAMMWVRQAPGKGLEWVARIRSKNNYATYYADSVKDRTTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSIISYWAYWQGTIVTSSGGGGSGGGSGTQVVTQEPLTVS PGGTIVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTLTVL |
| 711 | BCMA-72 | BC 3A4-37- C9-G1 | VH CDR1 aa | NYDMA |
| 712 | BCMA-72 | BC 3A4-37- C9-G1 | VH CDR2 aa | SISTRGDITSYRDSVKG |
| 713 | BCMA-72 | BC 3A4-37- C9-G1 | VH CDR3 aa | QDYYTIDYMGFAY |
| 714 | BCMA-72 | BC 3A4-37- C9-G1 | VL CDR1 aa | RASEDIYNGLA |

| | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|---|
| | | C9-G1 | | |
| 715 | BCMA-72 | BC 3A4-37-C9-G1 | VL CDR2 | aa GASSLQD |
| 716 | BCMA-72 | BC 3A4-37-C9-G1 | VL CDR3 | aa AGPHKYPLT |
| 717 | BCMA-72 | BC 3A4-37-C9-G1 | VH | aa EVQLLESGGGLVQPGGRSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGTLVTVSS |
| 718 | BCMA-72 | BC 3A4-37-C9-G1 | VL | aa AIQMTQSPSSILSASVGDRVITCRASEDTIYNGLAWYQQKPGKAPKLIIYGASSLQDGVPSPRFSGSGS GTDFTLTISSMQPEDEATYYCAGPHKYPLTFGGTKVEIK |
| 719 | BCMA-72 | BC 3A4-37-C9-G1 | scFv | aa EVQLLESGGGLVQPGGRSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGTLVTVSSGGGSGGGGGGG GSIAIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLIIYGASSLQDGVPSPRFSGSGS GSGTDFTLTISSMQPEDEATYYCAGPHKYPLTFGGTKVEIK |
| 720 | BCMA-72 HL x CD3 HL | BC 3A4-37-C9-G1 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa EVQLLESGGGLVQPGGRSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGTLVTVSSGGGSGGGGGGGGGGG GSIAIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLIIYGASSLQDGVPSPRFSGSGS GSGTDFTLTISSMQPEDEATYYCAGPHKYPLTFGGTKVEIK LSCAAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTFISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNFGNSIYSYWAYWGQGTLVTVSSGGGSGGGSGGGSGQTVVTCQEPSLTVS PGGTVTLLTCGSTSTGAVTSGNYPNWQOKPQGAAPRGLIGGTKEFLAPGTPARESGSSLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRMWVFGGTTKLTVL |
| 721 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | VH CDR1 | aa NYDMA |
| 722 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | VH CDR2 | aa SISTRGDTITSYRDSVKG |
| 723 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | VH CDR3 | aa QDYYTDYMGFAY |
| 724 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | VL CDR1 | aa RASEDIYNGLA |
| 725 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | VL CDR2 | aa GASSLQD |
| 726 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | VL CDR3 | aa QQSRNYQQT |
| 727 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | VH | aa EVQLLESGGGLVQPGGRSLRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDTITSYRDSVKGR FTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDYMGFAYWQGTLVTVSS |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|--|
| 728 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | VL | aa | AIQMTOQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLITYGASSLQDGVPSPRFSGSGS GTDFITLTISMSMOPEDEATYYCQQSRNYQQTFGGTKVEIK |
| 729 | BCMA-73 | BC 3A4-37-C9-G8 | scFv | aa | EVQLESGGGLVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDMGFAYWQGTLVTVSSGGGGGGGGGG GSAIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGAASSLQDGVPSPRFSGSGS GSGTIDFTLTISMSMOPEDEATYYCQQSRNYQQTFGGTKVEIK |
| 730 | BCMA-73 HL x CD3 HL | BC 3A4-37-C9-G8 HL x CD3 HL | 二重異性分子 | aa | EVQLESGGGLVQPGRSIIRLSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPGKGLEWVSSISTRGDITSYRDSVKGR FTISRDNSKNNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQDYYTDMGFAYWQGTLVTVSSGGGGGGGGGG GSAIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKAPKLLIYGAASSLQDGVPSPRFSGSGS GSGTIDFTLTISMSMOPEDEATYYCQQSRNYQQTFGGTKVEIK |
| 731 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 732 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | VH CDR2 | aa | SITGGDTYYADSVKG |
| 733 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | VH CDR3 | aa | HGYYDGYHLFDY |
| 734 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | VL CDR1 | aa | RASQGISNYLN |
| 735 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 736 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | VL CDR3 | aa | MGQTIISSYT |
| 737 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLIIRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKG FTISRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYDGYHLFDYWGQTLVTVSS |
| 738 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | VL | aa | DIQMTOQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYTSGVPSRFSGSGS GTDYLTISLQPEDFATYYCMGQTISYYTFCQGTLKIEIK |
| 739 | BCMA-74 | BC C3-33-D7-B1 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLIIRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKG FTISRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYDGYHLFDYWGQTLVTVSSGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYTNSNLQSGVPSRFSGSGS GSGTIDFTLTISLQPEDFATYYCMGQTISYYTFCQGTLKIEIK |

| | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|---|
| | | | | QPEDEAEYYCVLWYSNRWVGGGTKLTVL |
| 751 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | VH CDR1 | aa NFDMA |
| 752 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | VH CDR2 | aa SITGGGDTYYADSVKG |
| 753 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | VH CDR3 | aa HGYYDGYHLFDY |
| 754 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | VL CDR1 | aa RASQGISNYLN |
| 755 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | VL CDR2 | aa YTSNLQS |
| 756 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | VL CDR3 | aa MGQTISYYT |
| 757 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | VH | aa EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGGDTYYADSVKG FTISRDNNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLTVISSL |
| 758 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | VL | aa DIQMTOQPSSLSASVGDRVTISCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYTTSNLSQGVPSRFSGSGS GTDYTLTISSLQPEDFATYYCMGQTISYYTFCQGQTKLEIK |
| 759 | BCMA-76 | BC C3-33-F9-B1 | scFv | aa EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGGDTYYADSVKG FTISRDNNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLTVSSGGGSGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYTTSNLSQGVPSRFSGSGS GSGIDYTLTISSLQPEDFATYYCMGQTISYYTFCQGQTKLEIK |
| 760 | BCMA-76 HL x CD3 HL | BC C3-33-F9-B1 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGGDTYYADSVKG FTISRDNNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLTVSSGGGSGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYTTSNLSQGVPSRFSGSGS GSGIDYTLTISSLQPEDFATYYCMGQTISYYTFCQGQTKLEIK LSCAAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDDTAVYYCVRHGNGFNSYISYWAWWGQTLTVSSGGGSGGGG PGGTVTLLTCGSSSTGAUTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVGGGTKLTVL |
| 761 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | VH CDR1 | aa NFDMA |
| 762 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | VH CDR2 | aa SITGGGDTYYADSVKG |
| 763 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | VH CDR3 | aa HGYYDGYHLFDY |

| | | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|---|--|
| 764 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | VL CDR1 | aa | RASQGISNYLN |
| 765 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 766 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | VL CDR3 | aa | MGQTIISSYT |
| 767 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGRLSLCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLVTVSGGGSGGGSGGG |
| 768 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | VL | aa | DIQMTQSPSSLASAVGDRVITICRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLIQSGVPSRFSGSGS GTDFITLTISLQPEDFATYCMGQTISSYTFGQGTKLEIK |
| 769 | BCMA-77 | BC C3-33-F10B1 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVQPGRLSLCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLVTVSGGGSGGGSGGG GSDIOMTQSPSSLSSAVGDRVITICRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLIQSGVPSRFSGSGS GSGTDFITLTISLQPEDFATYCMGQTISSYTFGQGTKLEIK |
| 770 | BCMA-77 HL x CD3 HL | BC C3-33-F10B1 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLVESGGGLVQPGRLSLCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLVTVSGGGSGGGSGGG GSDIOMTQSPSSLSSAVGDRVITICRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLIQSGVPSRFSGSGS GSGTDFITLTISLQPEDFATYCMGQTISSYTFGQGTKLEIK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWAVIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNEFGNSYISYWAYWQGQTLVTVSGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLLCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVALWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 771 | BCMA-78 | BC E5-33-A11-A10 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 772 | BCMA-78 | BC E5-33-A11-A10 | VH CDR2 | aa | SITGGDTYYADSVKG |
| 773 | BCMA-78 | BC E5-33-A11-A10 | VH CDR3 | aa | HGYYDGYHLFDY |
| 774 | BCMA-78 | BC E5-33-A11-A10 | VL CDR1 | aa | RASQGISNHLN |
| 775 | BCMA-78 | BC E5-33-A11-A10 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 776 | BCMA-78 | BC E5-33-A11-A10 | VL CDR3 | aa | QQYFDRPYT |
| 777 | BCMA-78 | BC E5-33-VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR | |

| | | | | | |
|-----|---------------------|------------------|---------------------------|----|---|
| | | A11-A10 | | | FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWQGTLVTVSS |
| 778 | BCMA-78 | BC E5-33-A11-A10 | VL | aa | DIQMTQSPSSLASAVGDRVTISCRASQGISNHLNWFOQQPKGRAPPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGGSGS |
| 779 | BCMA-78 | BC E5-33-A11-A10 | scFv | aa | GTDFITLTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFFGGTKVEIK |
| 780 | BCMA-78 HL x CD3 HL | BC E5-33-A11-A10 | 二重特異性分子 HL x CD3 HL | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVTISCRASQGISNHLNWFOQQPKGRAPPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGGSGS GGTIDFTLTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFFGGTKVEIK |
| 781 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | VH CDR1 | aa | NEDMA |
| 782 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | VH CDR2 | aa | SITGGDTYYADSVKG |
| 783 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | VH CDR3 | aa | HGYYDGYHLFDY |
| 784 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | VL CDR1 | aa | RASQGISNHLN |
| 785 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 786 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | VL CDR3 | aa | QQYFDRPYT |
| 787 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWQGTLVTVSS |
| 788 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | VL | aa | DIQMTQSPSSLASAVGDRVTISCRASQGISNHLNWYQQPKGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGGSGS GTDYITLTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFFGGTKVEIK |
| 789 | BCMA-79 | BC E5-33-B11-A10 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVTISCRASQGISNHLNWYQQPKGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGGSGS |

| | | | | |
|-----|---------------------|-------------------------------------|--------------|---|
| | | | | GGGTDYLTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFGGTKEIK |
| 790 | BCMA-79 HL x CD3 HL | BC E5-33- B11-A10 HL x CD3 HL | 二重特異性 二分子 | EVQLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNEDMAMVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVVKGR FT1SRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYDGHFLFDYWGQTLVTVSSGGGGSGGGGGGG GSDIQMTQSPSLSASVGDRVITCRASQGISMHNWYQQKPGKAPKPLIYTSNLQSGVPNSRFSGS GSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFGGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKNNYATYYADSVKDRTTISRDDSCKNTAYLQMN |
| 791 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | VH CDR1 | aa |
| 792 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | VH CDR2 | aa |
| 793 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | VH CDR3 | aa |
| 794 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | VL CDR1 | aa |
| 795 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | VL CDR2 | aa |
| 796 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | VL CDR3 | aa |
| 797 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | VH | aa |
| 798 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | VL | aa |
| 799 | BCMA-80 | BC E5-33- G11-A10 | scFv | aa |
| 800 | BCMA-80 HL x CD3 HL | BC E5-33- G11-A10 HL x CD3 HL | 二重特異性 二分子 | EVQLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNEDMAMVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVVKGR FT1SRDNAKNTLYLQMDSLRAEDTAVYYCVRHGYDGHFLFDYWGQTLVTVSSGGGGSGGGGGGG GSDIQMTQSPSLSASVGDRVITCRASQGISMHNWFOQQKPGKAPKPLIYTSNLQSGVPNSRFSGS GSGTDFTLTTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFGGTKEIK |

| | | | | |
|-----|---------------------|------------------------------------|-------------|---|
| | | | | NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLVTVSSGGGGSGGGSGQTVVTQEPSLTVSPGGTVLTCGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 801 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | VH CDR1 | aa NFDMA |
| 802 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | VH CDR2 | aa SITGGDTYYADSVKG |
| 803 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | VH CDR3 | aa HGYIDGYHLFDY |
| 804 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | VL CDR1 | aa RASQGISNHLN |
| 805 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | VL CDR2 | aa YTSNLQS |
| 806 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | VL CDR3 | aa QQYFDRPYT |
| 807 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | VH | aa EVQLVESEGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTESNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGGDTYYADSVKGRTTISRDNNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGG |
| 808 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | VL | aa DIQMTOQSPSSLASAVGERVTITCRASQGISNHLNWYQQKPGKAPKSЛИYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDFITLTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFGGTKVEIK |
| 809 | BCMA-81 | BC E5-33-G12-A10 | scFv | aa EVQLVESEGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTESNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGGDTYYADSVKGRTTISRDNNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSIDIQMTQSPSSLSASAVGERVTITCRASQGISNHLNWYQQKPGKAPKSЛИYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDFITLTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFGGTKVEIK |
| 810 | BCMA-81 HL x CD3 HL | BC E5-33-G12-A10 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa EVQLVESEGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTESNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGGDTYYADSVKGRTTISRDNNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSIDIQMTQSPSSLSASAVGERVTITCRASQGISNHLNWYQQKPGKAPKSЛИYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDFITLTISLQPEDFATYYCQQYFDRPYTFGGTKVEIK |
| 811 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | VH CDR1 | aa NFDMA |
| 812 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | VH CDR2 | aa SITGGDTYYADSVKG |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|--|
| 813 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | VH CDR3 | aa | HGYIDGYHILFDY |
| 814 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | VL CDR1 | aa | RASQGISNHLN |
| 815 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 816 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | VL CDR3 | aa | QQYSNLPYT |
| 817 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTTGGDTYYADSVVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLDYWGQTLTVT |
| 818 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | VL | aa | DIQMTQSPSSLASSAVGDRVTISCRASQGISNHLNWFOQKPGRAPKPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GTDFLTISLQPEDFATYYCQQYNSNLPYTFGGGTKEIK |
| 819 | BCMA-82 | BC E5-33-A11-B8 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTTGGDTYYADSVVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLDYWGQTLTVTSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQGISNHLNWFOQKPGRAPKPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYNSNLPYTFGGGTKEIK |
| 820 | BCMA-82 HL x CD3 HL | BC E5-33-A11-B8 HL x CD3 HL | 二重特异性分子 | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTTGGDTYYADSVVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDGYHLDYWGQTLTVTSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQGISNHLNWFOQKPGRAPKPLIYTTSNLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYNSNLPYTFGGGTKEIK LSCAAASGFTFNKYAMNWVROAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKIEDTAVYYCVRHGNEGNSYISYWAYWGQTLTVTSSGGGGSGGGGSQTVVTVQEPSLTVS PGGTVTLLTCGSTSTGAUTSGNYPNWWQQKPGQQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDAEYYCVALWYSNRWVFGGGTKITVL |
| 821 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 822 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | VH CDR2 | aa | SITGGDTIYADSVVK |
| 823 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | VH CDR3 | aa | HGYIDGYHILFDY |
| 824 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | VL CDR1 | aa | RASQGISNHLN |
| 825 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 826 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | VL CDR3 | aa | QQYSNLPYT |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|---|
| | | B11-B8 | | | |
| 827 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | VH | aa | EVQLVESEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLILQMDSLRAEDTAVYCCVRHGYDGYHLFDYWGQTLTVSS |
| 828 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQGISNHLNWYQQPKGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGS GTDTLTISLQPEDFATYYCQQYSNLPYTGGTKVEIK |
| 829 | BCMA-83 | BC E5-33-B11-B8 | scFv | aa | EVQLVESEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLILQMDSLRAEDTAVYCCVRHGYDGYHLFDYWGQTLTVSSGGGSGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQGISNHLNWYQQPKGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGS GSGTDYTLLTISLQPEDFATYYCQQYSNLPYTGGTKVEIK |
| 830 | BCMA-83 HL x CD3 HL | BC E5-33-B11-B8 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLVESEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLILQMDSLRAEDTAVYCCVRHGYDGYHLFDYWGQTLTVSSGGGSGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQGISNHLNWYQQPKGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGS GSGTDYTLLTISLQPEDFATYYCQQYSNLPYTGGTKVEIK LSCAASGFTFTNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTIAVYCCVRHGNFGNSYISYWAYWGQTLTVSSGGGSGGCGSQQTVVTQEPESTLTVS PGGTVTLLTCGSSSTGAVTSGNYPNWQQPKGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGLIGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 831 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 832 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | VH CDR2 | aa | SITGGDTYYADSVKG |
| 833 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | VH CDR3 | aa | HGYDDGYHLFDY |
| 834 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | VL CDR1 | aa | RASQGISNHLN |
| 835 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | VL CDR2 | aa | YTSNLQ |
| 836 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | VL CDR3 | aa | QQYSNLPYT |
| 837 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | VH | aa | EVQLVESEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLILQMNSLRAEDTAVYCCVRHGYDGYHLFDYWGQTLTVSS |
| 838 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASVGERTITCRASQGISNHLNWYQQPKGKAPKSIIYYTSNLQSGVPSRFSGSGS GTDFLTISLQPEDFATYYCQQYSNLPYTGGTKVEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|---|
| 839 | BCMA-84 | BC E5-33-G12-B8 | scFv | aa | EVOLVESGGGLYQPGRLSLRSLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSSITITGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDDGYHLFDWQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGERVTITCRASQGISNHLNWYQKPGKAPKSLIYIYTTSNLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSNLPYTFGGCTKVEIK |
| 840 | BCMA-84 HL x CD3 HL | BC E5-33-G12-B8 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVOLVESGGGLYQPGRLSLRSLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPAKGLEWVSSSITITGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGYYDDGYHLFDWQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGERVTITCRASQGISNHLNWYQKPGKAPKSLIYIYTTSNLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSNLPYTFGGCTKVEIK LSCAASGFTFNKYAMMWVROAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGQTLVTVSSGGGSGGGSQTVVTQEFSLTVS PGGTVTLLTCGSSTGAUTSGNYNPWNWVQOKPGQAPRGLIGGTKE LAPGTPARFSGSLLGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 841 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | VH CDR1 | aa | NFGMN |
| 842 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | VH CDR2 | aa | WINTYTGESIYADDFKG |
| 843 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | VH CDR3 | aa | GGVYGGYDAMDY |
| 844 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | VL CDR1 | aa | RASQDISNYLN |
| 845 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | VL CDR2 | aa | YTSRLHS |
| 846 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | VL CDR3 | aa | QQGNTLPWT |
| 847 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | VH | aa | QYQLVQSGSELLKKPGASVKVSCKASGYFTFTNGMNWVRQAPCQGLEWMGWINTYTGESIYACDFKGR FVFLSLDTSVTTAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYWQGTLVTVSS |
| 848 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASLGDRTVITCRASQD1SNYLNWYQOKPDKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGS GTDYTLTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK |
| 849 | BCMA-85 | BC C6-97-G5 | scFv | aa | QVQLVQSGSELLKKPGASVKVSCKASGYFTFTNGMNWVRQAPCQGLEWMGWINTYTGESIYACDFKGR FVFLSLDTSVTTAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYWQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSI,SASI,GRVRTTITCRASQD1SNYLNWYQOKPDKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK |
| 850 | BCMA-85 HL x CD3 HL | BC C6-97-G5 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGSELLKKPGASVKVSCKASGYFTFTNGMNWVRQAPCQGLEWMGWINTYTGESIYACDFKGR FVFLSLDTSVTTAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYWQGTLVTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSI,SASI,GRVRTTITCRASQD1SNYLNWYQOKPDKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK |

| | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|--|
| | x CD3 HL | | GSDIQMTQSPSSLASLDDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPDKAQKLLIYNTSRLHSGVPSRSGS GSGTDYLTISSEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKEVETKSQGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVRKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYNGQTLTVTSSGGGGSGGGSGGGTQEPSTLTVS PGGTVTITCGSSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL |
| 851 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | VH CDR1 aa NEGMN |
| 852 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | VH CDR2 aa WINTYTGESIYADDFKG |
| 853 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | VH CDR3 aa GGVIYGGYDAMDY |
| 854 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | VL CDR1 aa RASQDISNYLN |
| 855 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | VL CDR2 aa YTSLRHS |
| 856 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | VL CDR3 aa QQGNTLPWT |
| 857 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | VH aa QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASAGYTFNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINNTYGESIYADDFKGR FVFSSSDTSVSTAYLQINSLSKAEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTILTVTSSGGGGSGGGSGGG |
| 858 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | VH aa DIQMTQTPSSLASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLLIYNTSRLHSGVPSRSGSGS GTDYSLTISNLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 859 | BCMA-86 | BC C6-98-C8 | scFv aa QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASAGYTFNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINNTYGESIYADDFKGR FVFSSSDTSVSTAYLQINSLSKAEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTILTVTSSGGGGSGGGSGGG |
| 860 | BCMA-86 HL x CD3 HL | BC C6-98-C8 HL x CD3 HL | aa GSDIQMTQTPSSLASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLLIYNTSRLHSGVPSRSGSGS GSGTDYSLTISNLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| | | | QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASAGYTFNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINNTYGESIYADDFKGR FVFSSSDTSVSTAYLQINSLSKAEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTILTVTSSGGGGSGGGSGGG GSDIQMTQTPSSLASVGDRVTITCRASQDISNYCQQGNTLPWTFGQGTKEVETKSQGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK GSGTDYSLTISNLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQGTKEVETKSQGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEVARIRSKYNNYATYYADSVRKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYNGQTLTVTSSGGGGSGGGSGGGTQEPSTLTVS PGGTVTITCGSSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWWFGGGTKLTVL |

| | | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|----|--|
| 861 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | VH CDR1 | aa | NFGMN |
| 862 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | VH CDR2 | aa | WINTYTGESIYADDFKG |
| 863 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | VH CDR3 | aa | GGVYGGYDAMDY |
| 864 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | VL CDR1 | aa | RASQDISNYLN |
| 865 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | VL CDR2 | aa | YTSRLHS |
| 866 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | VL CDR3 | aa | QQGNTLWPWT |
| 867 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | VH | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVVKVSCKASAGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR FVFSLDTSVTITAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVGGYDAMDYWGQGTIVLVTSSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLASVGDRVTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGSGS |
| 868 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | VL | aa | DIQMTQSPSSLASVGDRVTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGSGS GTDYTLTISLLEQDIATYFCQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 869 | BCMA-87 | BC C6-97-A6 | scFv | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVVKVSCKASAGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR FVFSLDTSVTITAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVGGYDAMDYWGQGTIVLVTSSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLASVGDRVTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGSGS GSGTDYTLTISLLEQDIATYFCQQGNTLPWTFGQGTKEIK |
| 870 | BCMA-87 HL x CD3 HL | BC C6-97-A6 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVVKVSCKASAGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR FVFSLDTSVTITAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVGGYDAMDYWGQGTIVLVTSSGGGSGGG GSDIQMTQSPSSLASVGDRVTTICRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGSGS GSGTDYTLTISLLEQDIATYFCQQGNTLPWTFGQGTKEIK LSCAASGFTENKYAMNWWRQAPGKGLEWARI SKYNNYATYYADSVKDRTTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNEGNSYITSWAYWGQGTIVLVTSSGGGSGGGSGQTVVTEQPSLTIVS PGGTVTLLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGLIGGTKEFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLISGV QPEDEAEYYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 871 | BCMA-88 | BC C6-98-C8-E3 | VH CDR1 | aa | NFGMN |
| 872 | BCMA-88 | BC C6-98-C8-E3 | VH CDR2 | aa | WINTYTGESIYADDFKG |
| 873 | BCMA-88 | BC C6-98-C8-E3 | VH CDR3 | aa | GGVYGGYDAMDY |
| 874 | BCMA-88 | BC C6-98- | VL CDR1 | aa | RASQDISNYLN |

| | | | | | |
|------------|---------------------|----------------------------|---------|----|--|
| | | C8-E3 | | | |
| 875 | BCMA-88 | BC C6-98-C8-E3 | VL CDR2 | aa | YTSLHS |
| 876 | BCMA-88 | BC C6-98-C8-E3 | VL CDR3 | aa | QSEATLPWT |
| 877 | BCMA-88 | BC C6-98-C8-E3 | VH | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYFTTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGMWINTYGESIYADDFKGR FVFTSSDTSVSTAYLQINSLKAEDEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTLYTVSS |
| 878 | BCMA-88 | BC C6-98-C8-E3 | VL | aa | DIQMKTQTPSSLASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLIIYTSRLHSGVPSSRGSGS GTDYSLTISNLQPEDIATYYCQSFATLPWTFGQGTKEIK |
| 879 | BCMA-88 | BC C6-98-C8-E3 | scFv | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYFTTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGMWINTYGESIYADDFKGR FVFTSSDTSVSTAYLQINSLKAEDEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTLYTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQTPSSLASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLIIYTSRLHSGVPSSRGSGS GSCTDYSLTISNLQPEDIATYYCQSFATLPWTFGQGTKEIK |
| 880 | BCMA-88 HL x CD3 HL | BC C6-98-C8-E3 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYFTTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGMWINTYGESIYADDFKGR FVFTSSDTSVSTAYLQINSLKAEDEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTLYTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQTPSSLASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLIIYTSRLHSGVPSSRGSGS GSCTDYSLTISNLQPEDIATYYCQSFATLPWTFGQGTKEIK |
| 881 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | VH CDR1 | aa | NFGMN |
| 882 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | VH CDR2 | aa | WINTYTGESIYADDFKG |
| 883 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | VH CDR3 | aa | GGVYGGYDAMDY |
| 884 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | VL CDR1 | aa | RASQDISNYLN |
| 885 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | VL CDR2 | aa | YTSLHS |
| 886 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | VL CDR3 | aa | QSEATLPWT |
| 887 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | VH | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGYFTTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGMWINTYGESIYADDFKGR FVFTSSDTSVSTAYLQINNLKAEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTLYTVSS |

| | | | | | |
|-----|---------------------|----------------------------|---------|----|--|
| 888 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | VL | aa | DIQMTQSPSSLISAVGDRVTISCRASQDITSNYLWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GTDYTFITISNLQPEDIATYYCQSFAFLPWTFGQGTKEIK |
| 889 | BCMA-89 | BC C6-98-A1-E3 | scFv | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKISKASAGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGESIYADDFKGR FVFSSDTISVSTAYLQINNLKAEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYWQGTILVTVSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVТИCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GSGTDTFTISNLQPEDIATYYCQSFAFLPWTFGQGTKEIK |
| 890 | BCMA-89 HL x CD3 HL | BC C6-98-A1-E3 HL x CD3 HL | 二重異性分子 | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKISKASAGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGESIYADDFKGR FVFSSDTISVSTAYLQINNLKAEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYWQGTILVTVSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSAVGDRVТИCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GSGTDTFTISNLQPEDIATYYCQSFAFLPWTFGQGTKEIK |
| 891 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | VH CDR1 | aa | NFGMNN |
| 892 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | VH CDR2 | aa | WINTNTGESIYADDFKG |
| 893 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | VH CDR3 | aa | GGVYGGYDAMDY |
| 894 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | VL CDR1 | aa | RASQDISNYLN |
| 895 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | VL CDR2 | aa | YTSRLHS |
| 896 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | VL CDR3 | aa | QSFATLPWT |
| 897 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | VH | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKISKASAGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGESIYADDFKGR FVFSLDTISVTTAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYWQGTILVTVSS |
| 898 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASLGDRTITCRASQDITSNYLWYQQKPDKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GTDYTLTISSEPEDIATYYCQSFAFLPWTFGQGTKEIK |
| 899 | BCMA-90 | BC C6-97-G5-E3 | scFv | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKISKASAGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGESIYADDFKGR FVFSLDTISVTTAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYWQGTILVTVSSGGGGSGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASLGDRTITCRASQDISNYLNWYQQKPDKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GSGTDTLTISSEPEDIATYYCQSFAFLPWTFGQGTKEIK |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-------------------------------|---------|--|---|
| 924 | BCMA-93 | BC C6-98-C8-G9 | VL CDR1 | aa | RASQDISNYIN |
| 925 | BCMA-93 | BC C6-98-C8-G9 | VL CDR2 | aa | YTSRLHS |
| 926 | BCMA-93 | BC C6-98-C8-G9 | VL CDR3 | aa | QHFRTLPWT |
| 927 | BCMA-93 | BC C6-98-C8-G9 | VH | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKSCKASGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGESIYADDFFKGR FVFSSDTSVSTAYLQINSILKAEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTLLVTVSSGGGSGGGGGG FVFLQMTQIPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLIIYTSRLHSGVPSRSGS |
| 928 | BCMA-93 | BC C6-98-C8-G9 | VL | aa | DIQMTQTPSSLASAVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLIIYTSRLHSGVPSRSGS GTDYSLTISNLQPEDIATYYCQHFRTRTLWPWTFGQGTTKVEIK |
| 929 | BCMA-93 | BC C6-98-C8-G9 | scFv | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKSCKASGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGESIYADDFFKGR FVFSSDTSVSTAYLQINSILKAEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTLLVTVSSGGGSGGGGGG GSDIQMTQIPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLIIYTSRLHSGVPSRSGS GSGTDYSLTISNLQPEDIATYYCQHFRTRTLWPWTFGQGTTKVEIK |
| 930 | BCMA-93 HL x CD3 HL | BC C6-98-C8-G9 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKSCKASGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGESIYADDFFKGR FVFSSDTSVSTAYLQINSILKAEDTAVYFCARGGVYGGYDAMDYWGQGTLLVTVSSGGGSGGGGGG GSDIQMTQIPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKALKLIIYTSRLHSGVPSRSGS GSGTDYSLTISNLQPEDIATYYCQHFRTRTLWPWTFGQGTTKVEIK LSCAASGFTFNKYAMNNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTDEDTAVYYCVRHGNFTGAVTSGNYPNWWVQQKPGQAPRGLIGGTTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV PGGTVTLLTCGSSTGAVTSGAVTSQVTVQEPSTLTVS QPEDAEYYCVALWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 931 | BCMA-94 | BC C6-97-A6-G9 | VH CDR1 | aa | NFGMN |
| 932 | BCMA-94 | BC C6-97-A6-G9 | VH CDR2 | aa | WINTNTGESIYADDFFKG |
| 933 | BCMA-94 | BC C6-97-A6-G9 | VH CDR3 | aa | GGVYGGYDAMDY |
| 934 | BCMA-94 | BC C6-97-A6-G9 | VL CDR1 | aa | RASQDISNYLN |
| 935 | BCMA-94 | BC C6-97-A6-G9 | VL CDR2 | aa | YTSRLHS |
| 936 | BCMA-94 | BC C6-97-A6-G9 | VL CDR3 | aa | QHFRTLPWT |
| 937 | BCMA-94 | BC C6-97-VH | aa | QVQLVQSGSELKKPGASVKSCKASGYTFTNFGMNNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGESIYADDFFKGR | |

| | | | | |
|-----|---------------------|-------------------------|---------|---|
| | | A6-G9 | | FVF'SLDTSVTTAYLQINSLKDEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYWQGTLVTVSS |
| 938 | BCMA-94 | BC C6-97-A6-G9 | VL | aa DIQMTQSPSSLASAVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGGSGS |
| 939 | BCMA-94 | BC C6-97-A6-G9 | scFv | aa QVQLVQSGSELIKPGASVKISCKASGYFTTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR |
| 940 | BCMA-94 HL x CD3 HL | BC C6-97-A6-G9 x CD3 HL | 二重異性分子 | aa FVFLQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGGSGS |
| 941 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | VH CDR1 | aa QVQLVQSGSELIKPGASVKISCKASGYFTTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR |
| 942 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | VH CDR2 | aa FVFLQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGGSGS |
| 943 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | VH CDR3 | aa GSGTIDYTLTISLEQEDIATYFCQHFRTLPWTFGQGTKEIK |
| 944 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | VL CDR1 | aa LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWAVIRSKYNNYATYYADSVKDRTFTISRDDSKNTAYLQMN |
| 945 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | VL CDR2 | aa NLKTEDTAVYYCVRHGNFTGNSYISYWAYWGQTLTVSSGGGSGGGSGGGSGQTVVQEPLTIVS |
| 946 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | VL CDR3 | aa PGGTVTLCGSSTGAVTSGNYPNWWQQQKPGQAPRGTPARFLGGTKFLAPGTLIGGTKEIK |
| 947 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | VH | aa YTSRLHS QFERTLPWT |
| 948 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | VL | aa QVQLVQSGSELIKPGASVKISCKASGYFTTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR |
| 949 | BCMA-95 | BC C6-98-A1-G9 | scFv | aa FVFLQMTQSPSSLSAVGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLIIYTSRLHSGVPSRFSGGSGS |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|----------|----|--|
| 950 | BCMA-95 HL x CD3 HL | BC C6 98- A1-G9 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa | QVQLVQSGSELKPGASVKISCKASGYTFTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR FVFFSDTSVSTAYLQINNLKAEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYGQGTLVTVSSGGGSGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDISNYLWYQKPGKAPKLIIYTYTSRLHSGVPSRFSGS GSGTDYIFTISNLQPEDIATYCQHQFRTLPWTFGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWARIRSKYNNYATYYADSVKDRTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLCGSSTIGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPDEAAEYYCVLWYSNRWVFFGGTKLTVL |
| 951 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | VH CDR1 | aa | NFGMN |
| 952 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | VH CDR2 | aa | WINTYTGESIYADDFKG |
| 953 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | VH CDR3 | aa | GGVYGGYDAMDY |
| 954 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | VL CDR1 | aa | RASQDISNYLN |
| 955 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | VL CDR2 | aa | YTSRLHS |
| 956 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | VL CDR3 | aa | QQGNTLIPWT |
| 957 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | VH | aa | QVQLVQSGSELKPGASVKISCKASGYTFTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR FVFFSDTSVSTAYLQINNLKAEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYGQGTLVTVSSGGGGGGGG |
| 958 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDISNYLWYQKPGKAPKLIIYTYTSRLHSGVPSRFSGS GTDYIFTISNLQPEDIATYCQQGNTLIPWTFGQGTKEIK |
| 959 | BCMA-96 | BC C6 98- A1 | scFv | aa | QVQLVQSGSELKPGASVKISCKASGYTFTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR FVFFSDTSVSTAYLQINNLKAEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYGQGTLVTVSSGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDISNYLWYQKPGKAPKLIIYTYTSRLHSGVPSRFSGS GSGTDYIFTISNLQPEDIATYCQHQFRTLPWTFGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWARIRSKYNNYATYYADSVKDRTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLCGSSTIGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV |
| 960 | BCMA-96 HL x CD3 HL | BC C6 98- A1 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa | QVQLVQSGSELKPGASVKISCKASGYTFTNFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESIYADDFKGR FVFFSDTSVSTAYLQINNLKAEDTAVYYCARGGVYGGYDAMDYGQGTLVTVSSGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQDISNYLWYQKPGKAPKLIIYTYTSRLHSGVPSRFSGS GSGTDYIFTISNLQPEDIATYCQHQFRTLPWTFGQGTKEIKSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTENKYAMNWVRQAPGKGLEWARIRSKYNNYATYYADSVKDRTISRDDSNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVS PGGTVTLCGSSTIGAVTSGNYPNWWQKPGQAPRGLIGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV |

| | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|-----------------------------|
| | | | | QPEDAEYYCVLWYSNRWFGGGTKLTVL |
| 961 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | VH CDR1 | aa |
| 962 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | VH CDR2 | aa |
| 963 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | VH CDR3 | aa |
| 964 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | VL CDR1 | aa |
| 965 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | VL CDR2 | aa |
| 966 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | VL CDR3 | aa |
| 967 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | VH | aa |
| 968 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | VL | aa |
| 969 | BCMA-97 | BC B12-33-G2-B2 | scFv | aa |
| 970 | BCMA-97 HL x CD3 HL | BC B12-33-G2-B2 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa |
| 971 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | VH CDR1 | aa |
| 972 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | VH CDR2 | aa |
| 973 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | VH CDR3 | aa |

| | | | | | |
|-----|------------------------|--------------------------------|-------------|----|---|
| 974 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | VL CDR1 | aa | RANGISNNIN |
| 975 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 976 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | VL CDR3 | aa | QQFTISLPYT |
| 977 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKSTLYLQMDSLURSEDATAVYCCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLVTVRHYDDGYHLFDYWGQTLVTVSS |
| 978 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | VL | aa | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRANQGISNNLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLQSGVPSRFSGSGS GTDYTLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFQGQTKLEIK |
| 979 | BCMA-98 | BC B12-33-A4-B2 | scFv | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKSTLYLQMDSLURSEDATAVYCCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLVTVSSGGGSGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRANQGISNNLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLQSGVPSRFSGSGS GSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFQGQTKLEIK |
| 980 | BCMA-98 HL x CD3 HL | BC B12-33-A4-B2 HL x CD3 HL | 二重特異性 分子 | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKSTLYLQMDSLURSEDATAVYCCVRHGYYDGYHLFDYWGQTLVTVSSGGGSGGGGGG GSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRANQGISNNLNWYQQKPGKAPKPLIYYSNLQSGVPSRFSGSGS GSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFQGQTKLEIK LSCAASGFTFNKYAMNWRQAPGKGLEWARI SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSNTAYLQMN NLKTIEDATAVYCCVRHGNFTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGTPARFSGSLLLGGKAALTILSGV PGGTVTLLCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGTPARFSGSLLLGGKAALTILSGV QPEDAEYYCVALWYSNRWVFGGGTKLTVL |
| 981 | BCMA-99 | BC B12-33-A5-B2 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 982 | BCMA-99 | BC B12-33-A5-B2 | VH CDR2 | aa | SITGGDTYYADSVKG |
| 983 | BCMA-99 | BC B12-33-A5-B2 | VH CDR3 | aa | HGYYDGYHLFDY |
| 984 | BCMA-99 | BC B12-33-A5-B2 | VL CDR1 | aa | RASQGISNNLN |
| 985 | BCMA-99 | BC B12-33-A5-B2 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 986 | BCMA-99 | BC B12-33-A5-B2 | VL CDR3 | aa | QQFTISLPYT |
| 987 | BCMA-99 | BC B12-33-VH | | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR |

| | | | | | |
|-----|---------------------|-----------------------------|---------|----|---|
| | | A5-B2 | | | FTISRDNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQGTIVTVSS |
| 988 | BCMA-99 | BC B12-33-A5-B2 | VL | aa | DIQMTQSPSSMSASVGDRVTITCRASQGINSNNLNWYQQKPGKAPKSLIYTTSNLQSGVPSRFSGGSGS |
| 989 | BCMA-99 | BC B12-33-A5-B2 | scFv | aa | GTDYLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFFQGTTKLEIK EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSMSASVGDRVTITCRASQGINSNNLNWYQQKPGKAPKSLIYTTSNLQSGVPSRFSGGSGS GSGTDYTTLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFFQGTTKLEIK |
| 990 | BCMA-99 HL x CD3 HL | BC B12-33-A5-B2 HL x CD3 HL | 二重特異性分子 | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSMSASVGDRVTITCRASQGINSNNLNWYQQKPGKAPKSLIYTTSNLQSGVPSRFSGGSGS GSGTDYTTLTISLQPEDFATYYCQQFTSLPYTFFQGTTKLEIK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWARI SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGTPARFSGSLLGCKAALTLSGV PGGTVTLLTCGSSTGAVTSGNYPNWWQQKPGQAPRGTPARFSGSLLGCKAALTLSGV QPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGTKLTVL |
| 991 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | VH CDR1 | aa | NFDMA |
| 992 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | VH CDR2 | aa | SITGGDTYYADSVKG |
| 993 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | VH CDR3 | aa | HGYYDGYHLFDY |
| 994 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | VL CDR1 | aa | RASQGISNNLN |
| 995 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | VL CDR2 | aa | YTSNLQS |
| 996 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | VL CDR3 | aa | QQFAHLPYT |
| 997 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | VH | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSMSASVGDRVTITCRASQGINSNNLNWYQQKPGKAPKSLIYTTSNLQSGVPSRFSGGSGS GTDYTTLTISLQPEDFATYYCQQFAHLPYTFFQGTTKLEIK |
| 998 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | VL | aa | EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPGKGLVWVSSITTGGDTYYADSVKGR FTISRDNAKNTLYLQMDSLRSEDTAVYYCVRHGYYDGYHLFDYWGQGTIVTVSSGGGGGGGGGGGG GSDIQMTQSPSSMSASVGDRVTITCRASQGINSNNLNWYQQKPGKAPKSLIYTTSNLQSGVPSRFSGGSGS |
| 999 | BCMA-100 | BC B12-33-A5-C10 | scFv | aa | |

| | | | | |
|------|----------------------|-----------|---------|---------------|
| 1021 | mac BCMAエピトープクラスター-4 | マカク | aa | NASMTNSVKGMNA |
| 1022 | BCMA-101 | BC 5G9 | VH CDR1 | aa |
| 1023 | BCMA-101 | BC 5G9 | VH CDR2 | aa |
| 1024 | BCMA-101 | BC 5G9 | VH CDR3 | aa |
| 1025 | BCMA-101 | BC 5G9 | VL CDR1 | aa |
| 1026 | BCMA-101 | BC 5G9 | VL CDR2 | aa |
| 1027 | BCMA-101 | BC 5G9 | VL CDR3 | aa |
| 1028 | BCMA-101 | BC 5G9 | VH | aa |
| 1029 | BCMA-101 | BC 5G9 | VL | aa |
| 1030 | BCMA-101 | BC 5G9 | scFv | aa |
| 1031 | BCMA-102 | BC 244-A7 | VH CDR1 | aa |
| 1032 | BCMA-102 | BC 244-A7 | VH CDR2 | aa |
| 1033 | BCMA-102 | BC 244-A7 | VH CDR3 | aa |
| 1034 | BCMA-102 | BC 244-A7 | VL CDR1 | aa |
| 1035 | BCMA-102 | BC 244-A7 | VL CDR2 | aa |
| 1036 | BCMA-102 | BC 244-A7 | VL CDR3 | aa |
| 1037 | BCMA-102 | BC 244-A7 | VH | aa |
| 1038 | BCMA-102 | BC 244-A7 | VL | aa |

| | | | | | |
|------|----------|-----------|---------|----|--|
| 1039 | BCMA-102 | BC 244-A7 | scFv | aa | EVQLVEQSGPELIVKPGASVMSCKASGYTTINHWMVKQKPQGGLEWIGYINPYNDDETEYNEKEKG KATLISDKSSTAYMELSLTSEDSAVYYCARDGYRDMDVMDYWGQGTTTVSSGGGGSGGGGG GGSELVMTQTPSSLASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDTGVKLILLIYTTSRLHSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK |
| 1040 | BCMA-103 | BC 263-A4 | VH CDR1 | aa | GFTFSNYDMA |
| 1041 | BCMA-103 | BC 263-A4 | VH CDR2 | aa | SISTRGDITSYRDSVKG |
| 1042 | BCMA-103 | BC 263-A4 | VH CDR3 | aa | QDYYTYDYMCFAY |
| 1043 | BCMA-103 | BC 263-A4 | VL CDR1 | aa | RASEDIYNGLA |
| 1044 | BCMA-103 | BC 263-A4 | VL CDR2 | aa | GASSLQD |
| 1045 | BCMA-103 | BC 263-A4 | VL CDR3 | aa | QQSYKYPLT |
| 1046 | BCMA-103 | BC 263-A4 | VH | aa | EVQLVEESEGGGLQPGRSLKSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPTKGLEWVASISTRGDITSYRDSVKG RFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCARQDYTDYMGFAYWGQGTLLTVVSS |
| 1047 | BCMA-103 | BC 263-A4 | VL | aa | EVLMQTQSPASLSASLGETVTIECRASEDIYNGLAWYQQKPQKSQPLIFGSGTKLELK GTQYSLKISGMQPEDEANYFCQQSYYKPLTGFSGTKLELK |
| 1048 | BCMA-103 | BC 263-A4 | scFv | aa | EVQLVEESEGGGLQPGRSLKSCAASGFTFSNYDMAWVRQAPTKGLEWVASISTRGDITSYRDSVKG RFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSEDIATYYCARQDYTDYMGFAYWGQGTLLTVVSSGGGGSGGG GELVMQTQSPASLSASLGETVTIECRASEDIYNGLAWYQQKPQKSQPLIYGASSLQDGVPSPRFSGSG SGTQYSLKISGMQPEDEANYFCQQSYYKPLTGFSGTKLELKGS |
| 1049 | BCMA-104 | BC 271-C3 | VH CDR1 | aa | GFTFSNFDMA |
| 1050 | BCMA-104 | BC 271-C3 | VH CDR2 | aa | SITTTGGDTYYRDSVKG |
| 1051 | BCMA-104 | BC 271-C3 | VH CDR3 | aa | HGYYYDGYHLLFDYY |
| 1052 | BCMA-104 | BC 271-C3 | VL CDR1 | aa | RASQGISNYL |
| 1053 | BCMA-104 | BC 271-C3 | VL CDR2 | aa | YTISNLQS |
| 1054 | BCMA-104 | BC 271-C3 | VL CDR3 | aa | QQYDISSYT |
| 1055 | BCMA-104 | BC 271-C3 | VH | aa | EVQLVEESEGGGLVQPGRSLKSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPTRGLEMWVASITGGDTYYRDSVKG |

| | | | | |
|------|----------|-----------|---------|--|
| | | | | RFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCVRHGYDGYHLFDYWGQGASVTVSS |
| 1056 | BCMA-104 | BC 271-C3 | VL | aa ELVMQTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGS |
| 1057 | BCMA-104 | BC 271-C3 | scFv | aa GTDYSLTINSLEPEDFAVYYCQQYDISSYTFGAGTKLEIK EVOLVVEESGGGLVOPGRSLKLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPTRGLEWVASITTGGDTYYRDSVKG |
| 1058 | BCMA-105 | BC 265-E5 | VH CDR1 | aa RFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCVRHGYDGYHLFDYWGQGASVTVSSGGGGGGGGGG GGSELMQTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPSRFSG SGSGTIDSYLTISLEPEDFAVYYCQQYDISSYTFGAGTKLEIK |
| 1059 | BCMA-105 | BC 265-E5 | VH CDR2 | aa GFTFSNFDMA SITGGGDTYYRDSVKG |
| 1060 | BCMA-105 | BC 265-E5 | VH CDR3 | aa HGYYDGYHLFDY |
| 1061 | BCMA-105 | BC 265-E5 | VL CDR1 | aa RASQGISNHLN |
| 1062 | BCMA-105 | BC 265-E5 | VL CDR2 | aa SITGGGDTYYRDSVKG |
| 1063 | BCMA-105 | BC 265-E5 | VL CDR3 | aa HGYYDGYHLFDY |
| 1064 | BCMA-105 | BC 265-E5 | VH | aa QCYDSFPLT EVOLVVEESGGGLVOPGRSLKLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPTRGLEWVASITTGGDTYYRDSVKG |
| 1065 | BCMA-105 | BC 265-E5 | VL | aa RFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCVRHGYDGYHLFDYWGQGTLVTVSS GTDYSLTISLEPEDFAMYCQQYDSFPLTFGSGTKLEIK EVOLVVEESGGGLVOPGRSLKLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPTRGLEWVASITTGGDTYYRDSVKG |
| 1066 | BCMA-105 | BC 265-E5 | scFv | aa GGSELMQTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNHLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPSRFSG SGSGTIDSYLTISLEPEDFAMYCQQYDSFPLTFGSGTKLEIK EVOLVVEESGGGLVOPGRSLKLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPTRGLEWVASITTGGDTYYRDSVKG |
| 1067 | BCMA-106 | BC271-B12 | VH CDR1 | aa GFTFSNFDMA SITGGGDTYYRDSVKG |
| 1068 | BCMA-106 | BC271-B12 | VH CDR2 | aa HGYYDGYHLFDY |
| 1069 | BCMA-106 | BC271-B12 | VH CDR3 | aa RASQGISNNLN |
| 1070 | BCMA-106 | BC271-B12 | VL CDR1 | aa YTSNLQS |
| 1071 | BCMA-106 | BC271-B12 | VL CDR2 | aa YTSNLQS |

| | | | | | |
|-------------|----------|-----------|---------|----|--|
| 1072 | BCMA-106 | BC271-B12 | VL CDR3 | aa | QQFDTSPTYT |
| 1073 | BCMA-106 | BC271-B12 | VH | aa | EVQLVEESGGGLVQPGRLSLKLSCAASGFTFSNFDMAWVRQAPTRGLEWVASITGGDTYYRDSVKGRFTI |
| 1074 | BCMA-106 | BC271-B12 | VL | aa | ELVMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISSNNLNWYQQKPDGTIKPLIYTYTTSNLQSGVPSRFSSGS |
| 1075 | BCMA-106 | BC271-B12 | scFv | aa | GTDSLTISSLEPEDFAMYCQQFDTSPTYFGAGTKLEIK |
| 1076 | BCMA-107 | BC 247-A4 | VH CDR1 | aa | EVQLVEESGGGLVQPGRLSLKLSCAASGETFSNEDMAWVRQAPTRGLEWVASITGGDTYYRDSVKGRFTI |
| 1077 | BCMA-107 | BC 247-A4 | VH CDR2 | aa | ELVMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISSNNLNWYQQKPDGTIKPLIYTYTTSNLQSGVPSRFSSGS |
| 1078 | BCMA-107 | BC 247-A4 | VH CDR3 | aa | GGSELVMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISSNNLNWYQQKPDGTIKPLIYTYTTSNLQSGVPSRFSSGS |
| 1079 | BCMA-107 | BC 247-A4 | VL CDR1 | aa | SGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYCQQFDTSPTYFGAGTKLEIK |
| 1080 | BCMA-107 | BC 247-A4 | VL CDR2 | aa | |
| 1081 | BCMA-107 | BC 247-A4 | VL CDR3 | aa | |
| 1082 | BCMA-107 | BC 247-A4 | VH | aa | |
| 1083 | BCMA-107 | BC 247-A4 | VL | aa | |
| 1084 | BCMA-107 | BC 247-A4 | scFv | aa | |
| 1085 | BCMA-108 | BC 246-B6 | VH CDR1 | aa | GYSFDPYYIN |
| 1086 | BCMA-108 | BC 246-B6 | VH CDR2 | aa | WLYFASGNSEYNE |
| 1087 | BCMA-108 | BC 246-B6 | VH CDR3 | aa | LYDYDWYFDV |

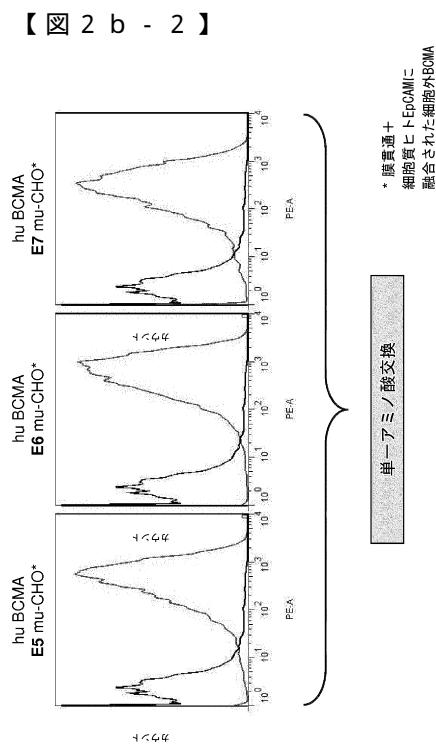
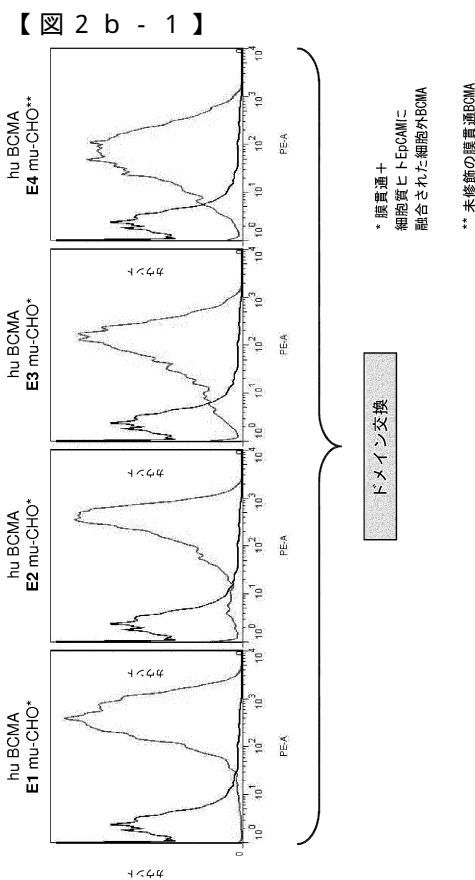
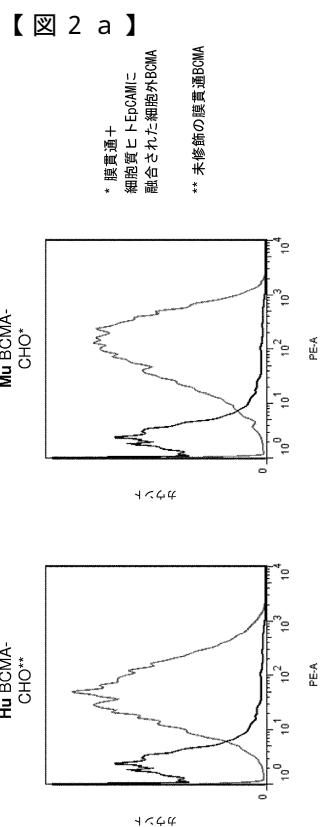
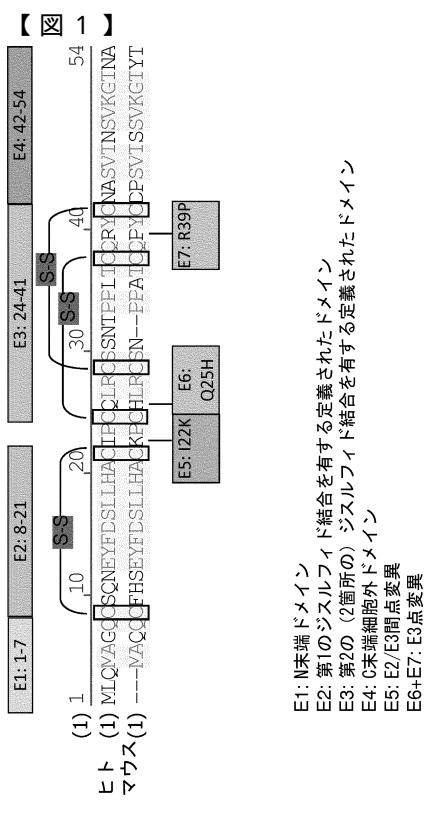
| | | | | | |
|-------------|----------|-----------|---------|----|--|
| 1088 | BCMA-108 | BC 246-B6 | VL CDR1 | aa | RSSQSLVHSNGNTYIHL |
| 1089 | BCMA-108 | BC 246-B6 | VL CDR2 | aa | KVSNRFS |
| 1090 | BCMA-108 | BC 246-B6 | VL CDR3 | aa | FQGSHVPWT |
| 1091 | BCMA-108 | BC 246-B6 | VH | aa | EVQLEQSGPQLVKPGASVKISCKVSGYSFPDYYINWVKQRPQGGLEWIGWIYFASGNSEYNERFTG KATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDTAVYFCASLYDYYFDVWQQGTTVTWSS |
| 1092 | BCMA-108 | BC 246-B6 | VL | aa | ELVMTQTPLSLPVSLGDQASIISCRSSQSLVHSNGNTYIHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPGRF SGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGVYYCFQGSHPWTFGGTKLEIK |
| 1093 | BCMA-108 | BC 246-B6 | scFv | aa | EVQLEQSGPQLVKPGASVKISCKVSGYSFPDYYINWVKQRPQGGLEWIGWIYFASGNSEYNERFTG KATLTVDTSNTAYMQLSSLTSEDTAVYFCASLYDYYFDVWQQGTTVTWSSGGGGGGGGGG SELVMTQTPLSLPVSLGDQASIISCRSSQSLVHSNGNTYIHWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPGR FSGSGSGTDFTLKINRVEAEDLGVYYCFQGSHPWTFGGTKLEIK |

10

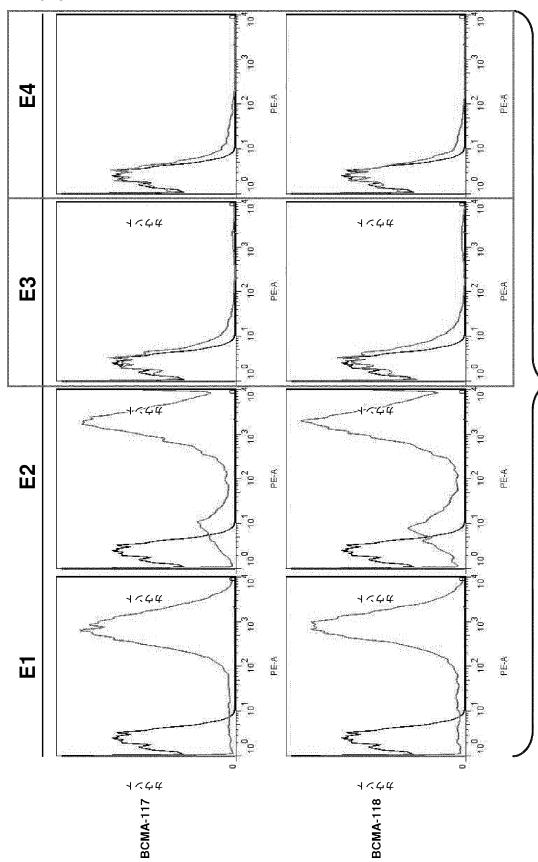
20

30

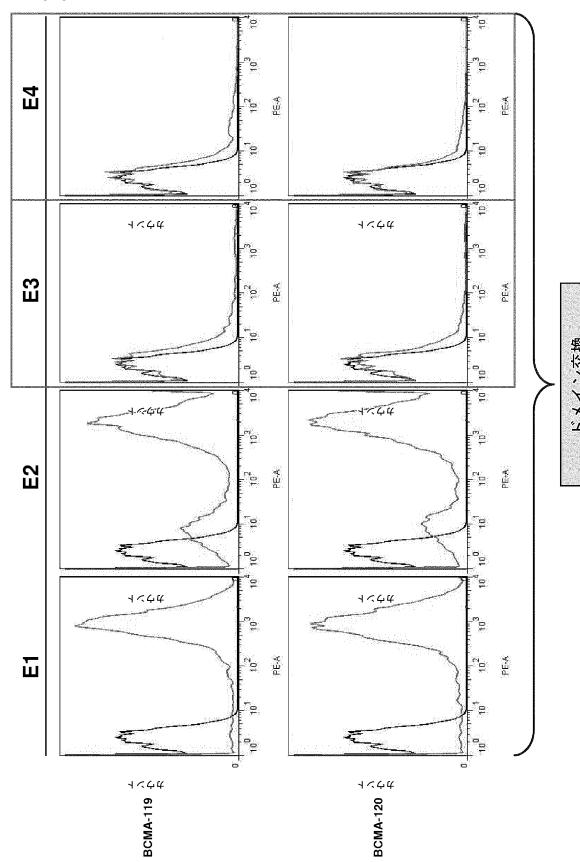
40



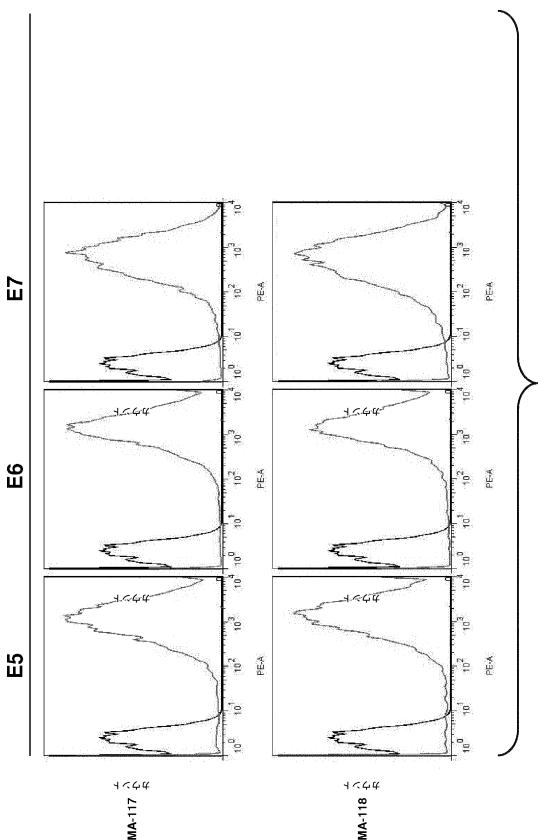
【図 A 3 - 1】



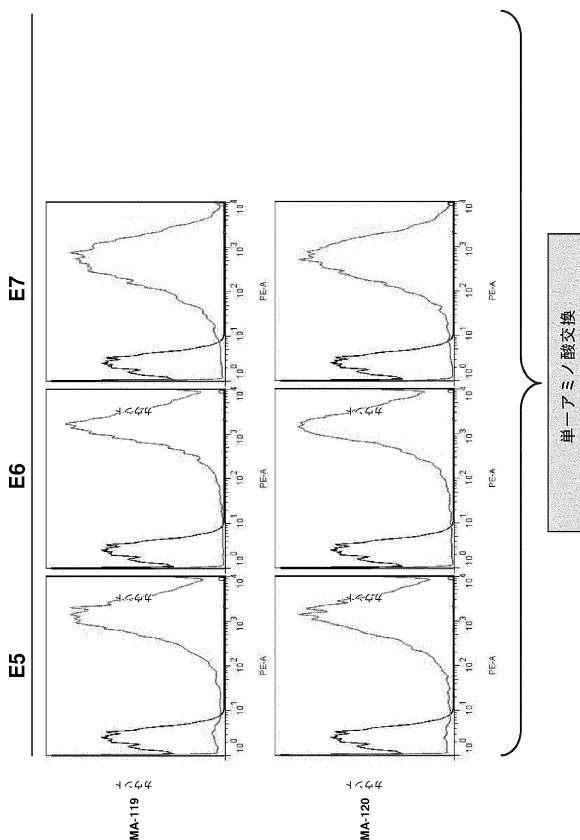
【図 A 3 - 2】



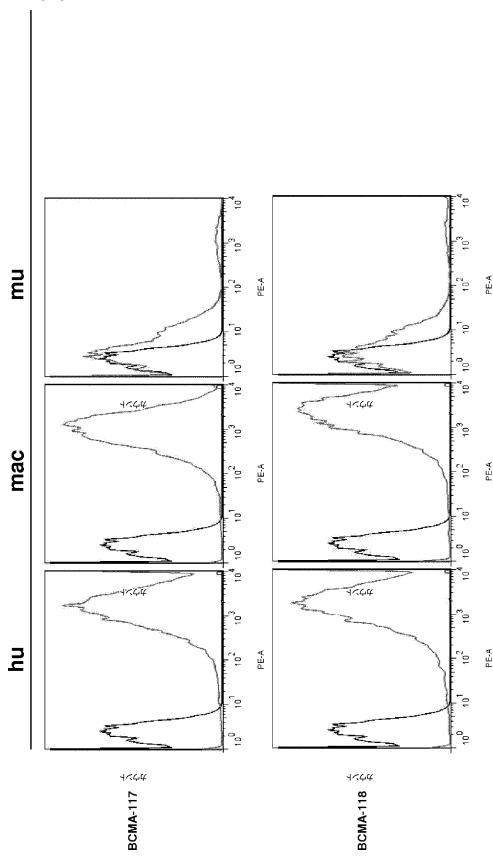
【図 A 3 - 3】



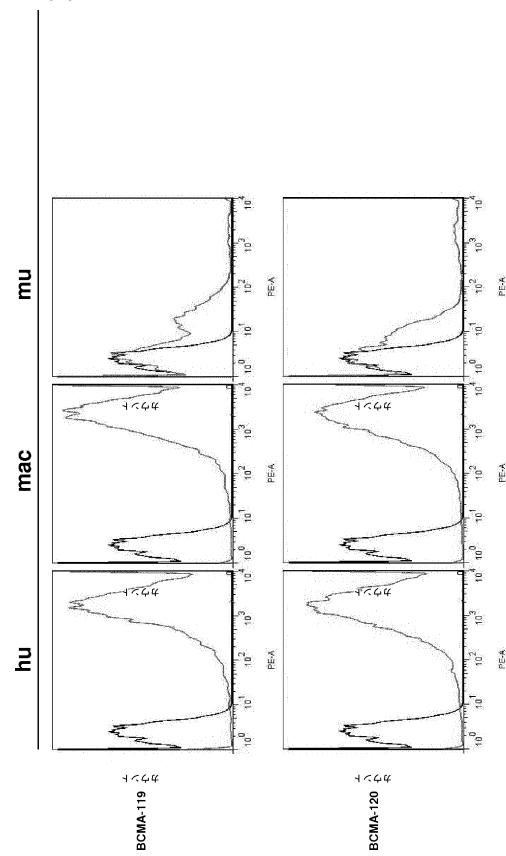
【図 A 3 - 4】



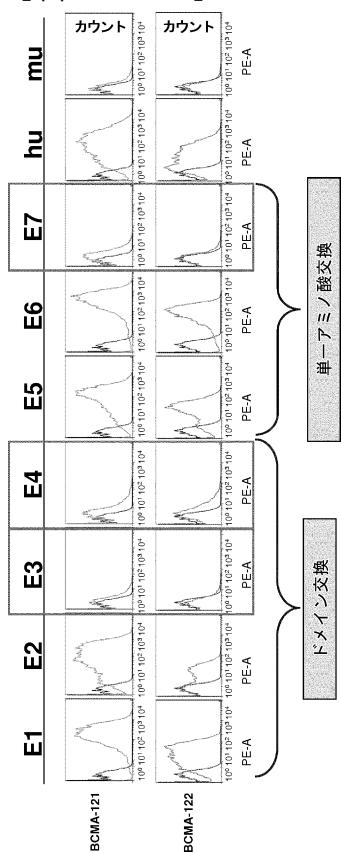
【図 A 3 - 5】



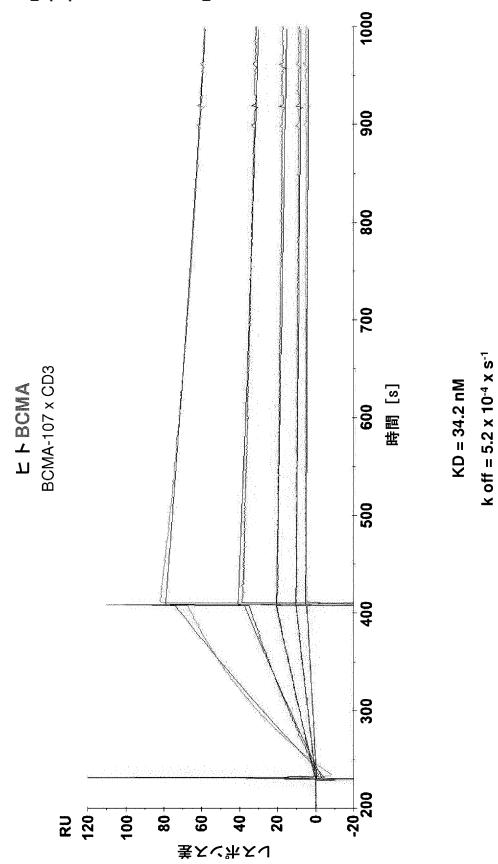
【図 A 3 - 6】



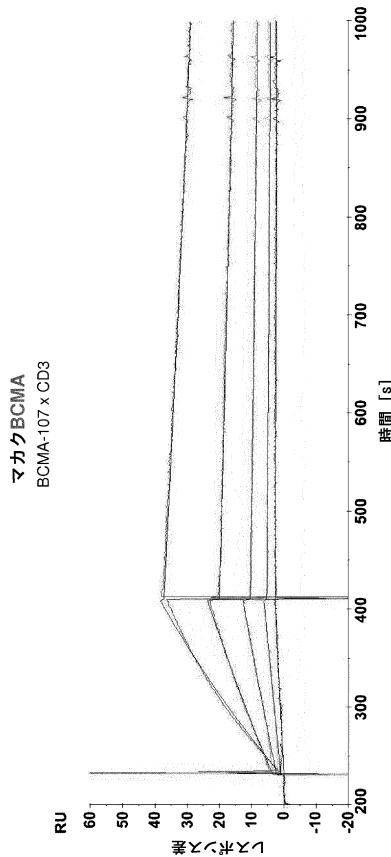
【図 A 3 - 7】



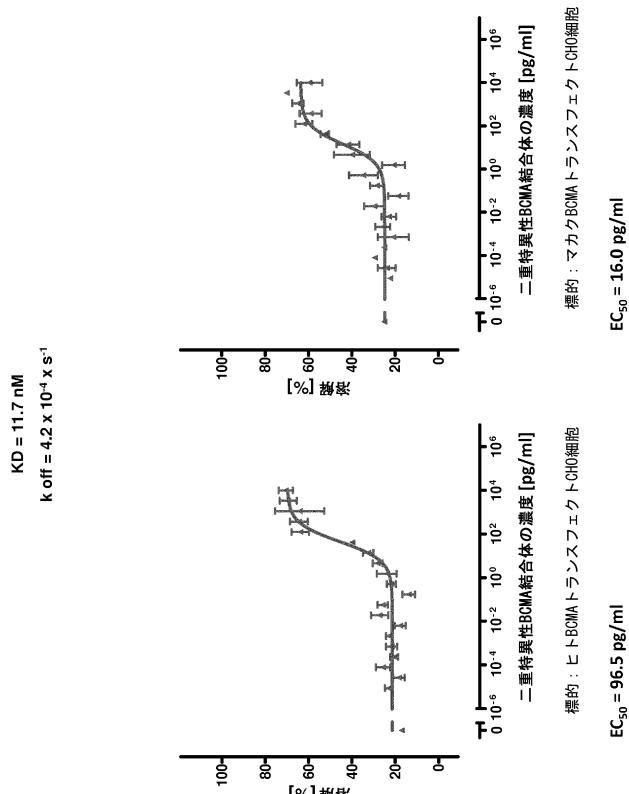
【図 A 4 - 1】



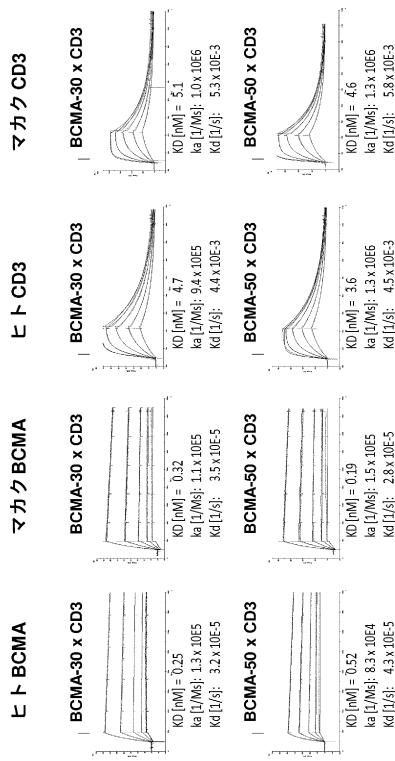
【図 A 4 - 2】



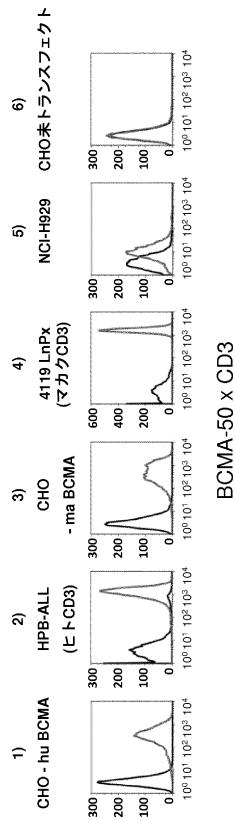
【図 A 5】



【図 A 6】



【図 A 7】



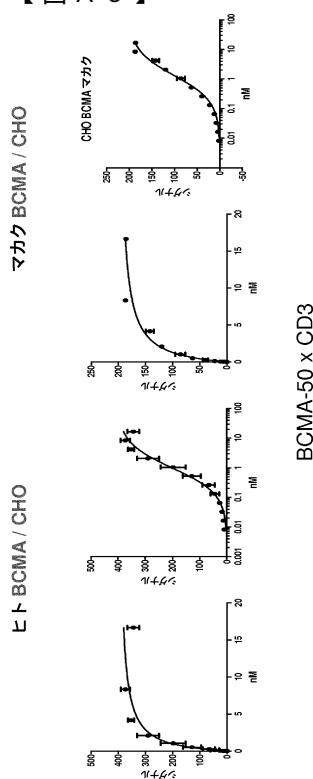
二重特異性BCMA結合体の濃度 [ng/ml]

標的 : ヒトBCMAトランスクエクトCHO細胞

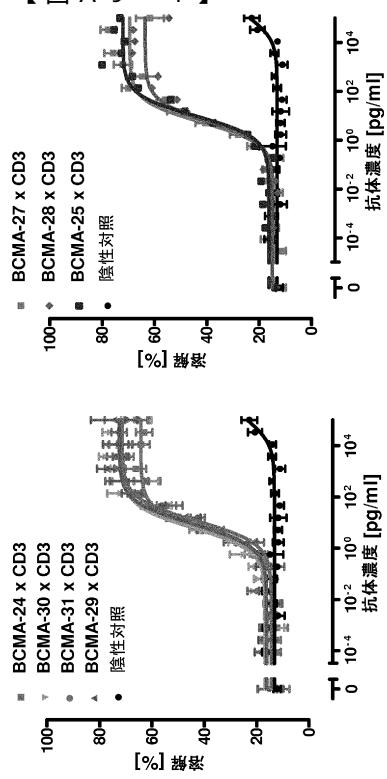
$EC_{50} = 96.5 \text{ pM}/\text{ml}$

$EC_{50} = 16.0 \text{ pM}/\text{ml}$

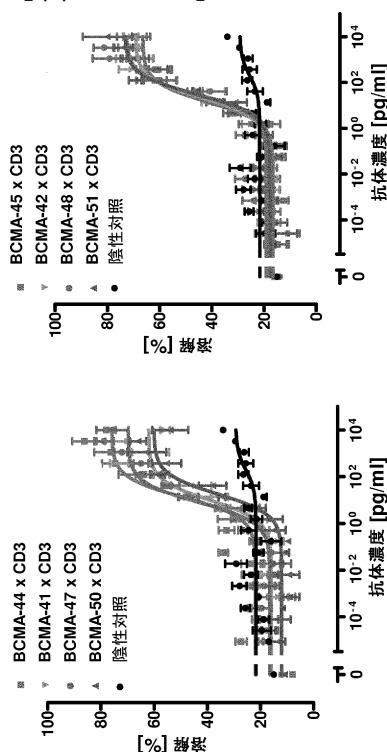
【図 A 8】



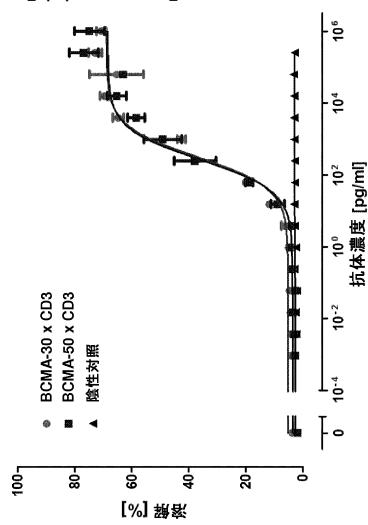
【図 A 9 - 1】



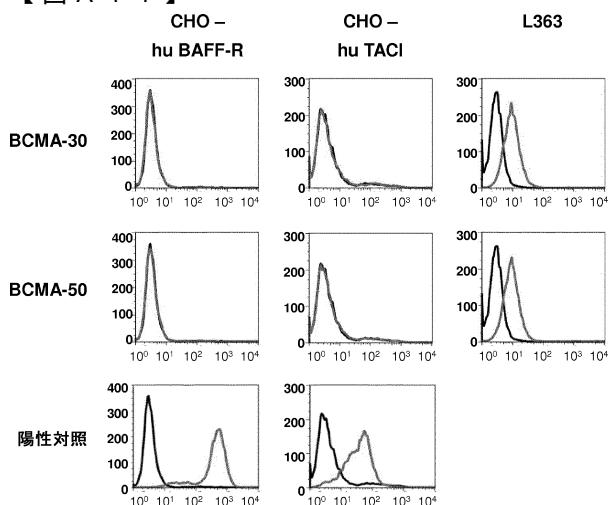
【図 A 9 - 2】



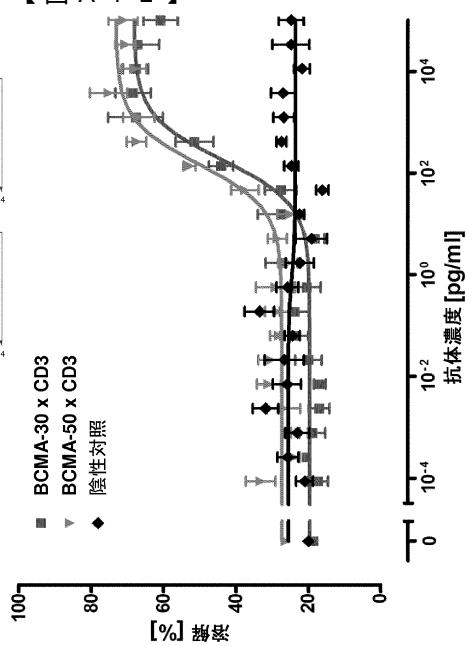
【図 A 10】



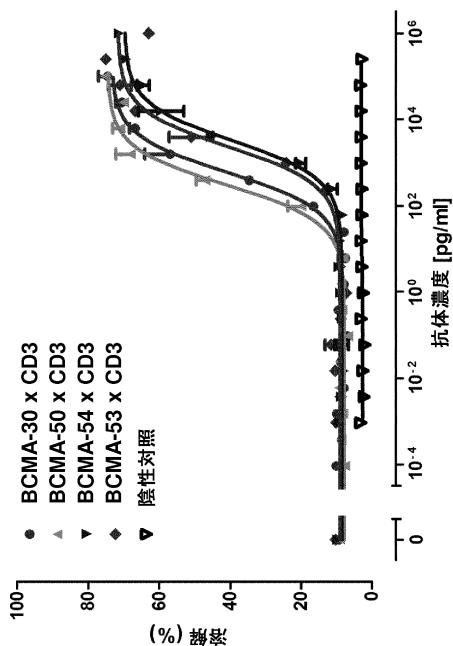
【図 A 1 1】



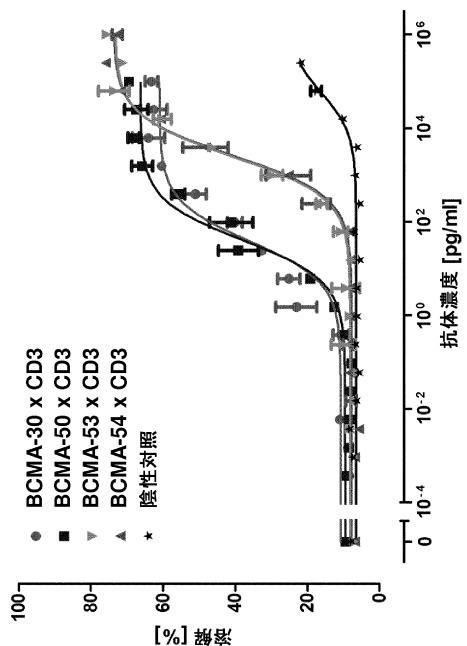
【図 A 1 2】



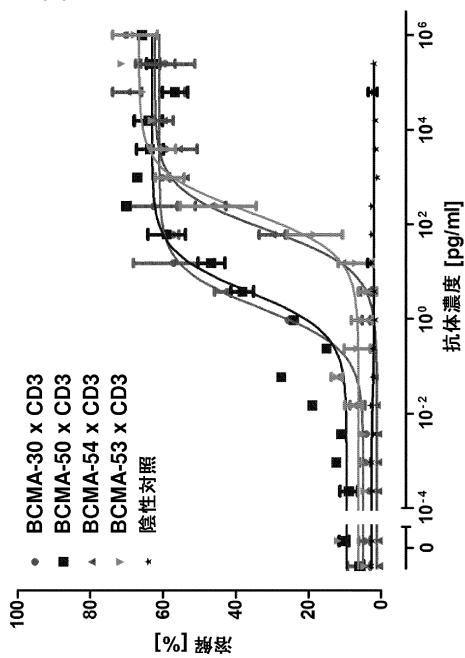
【図 A 1 3】



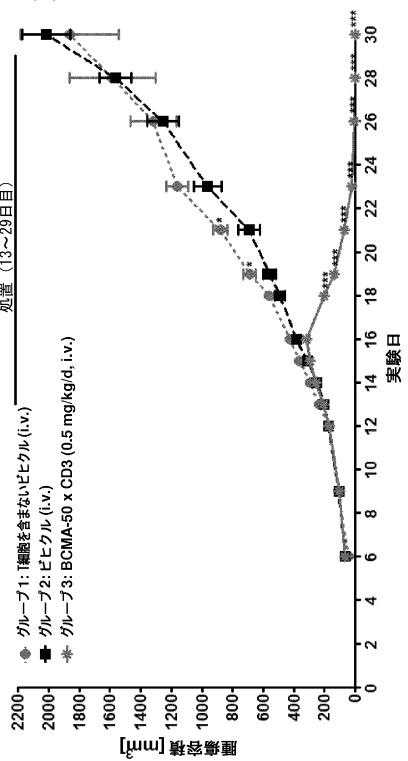
【図 A 1 4】



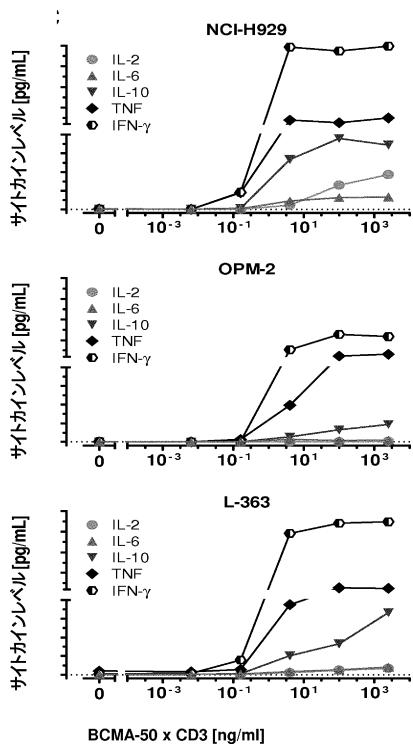
【図 A 1 5】



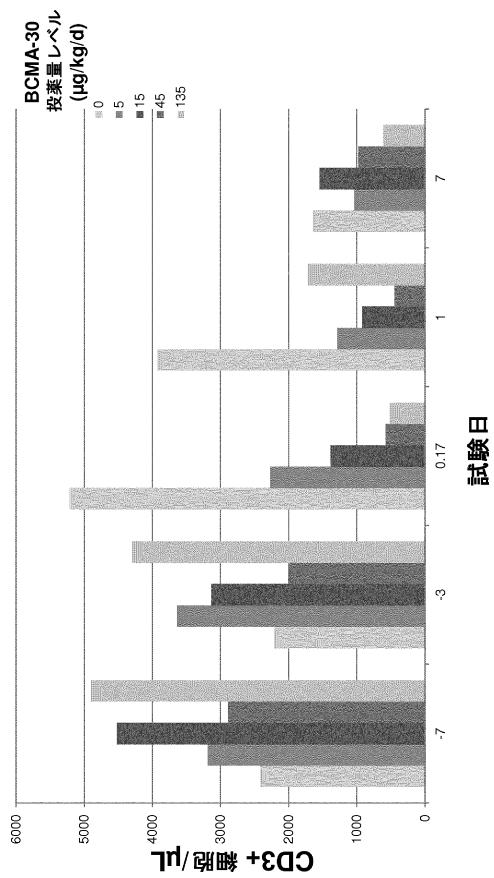
【図 A 1 6】



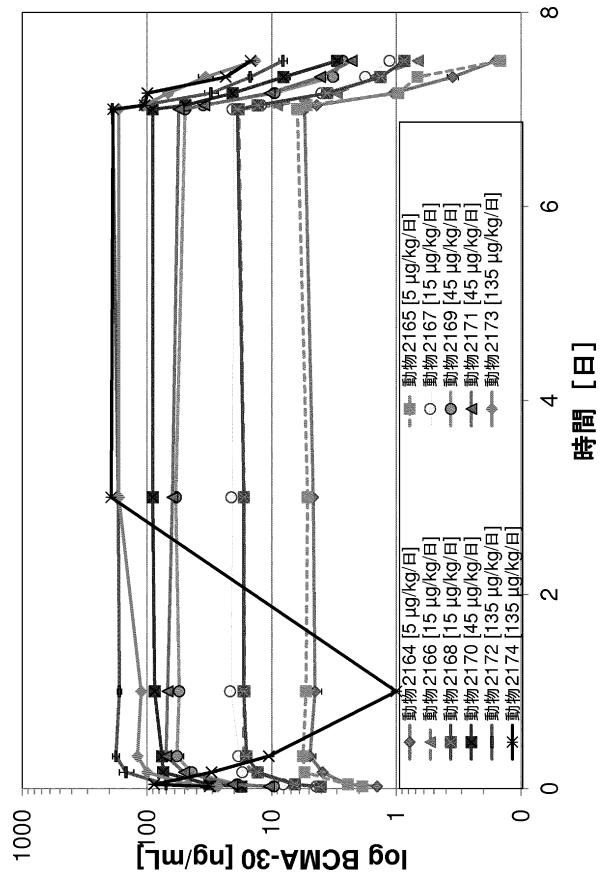
【図 A 1 7】



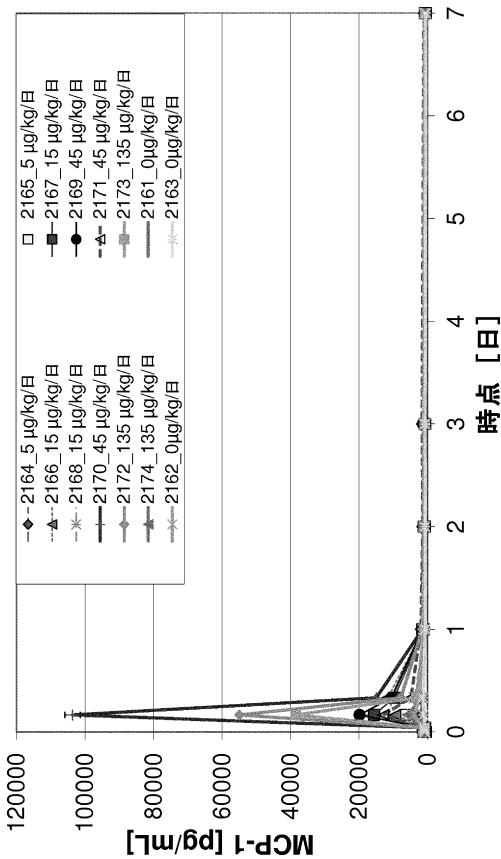
【図 A 1 8】



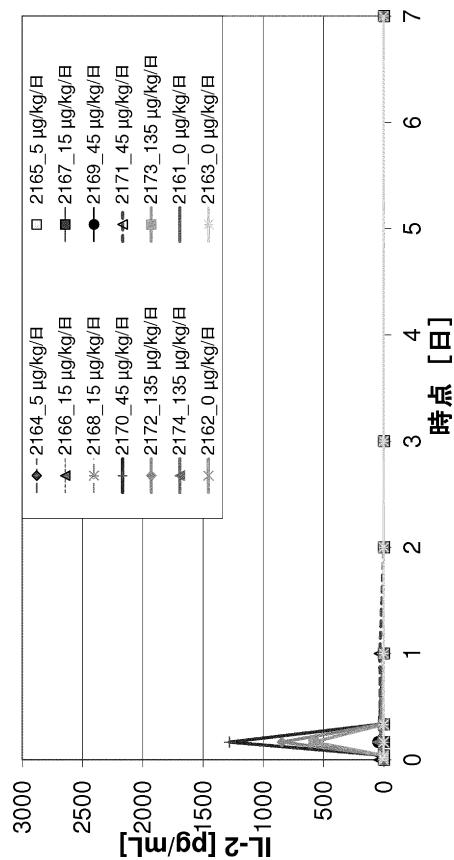
【図 A 19】



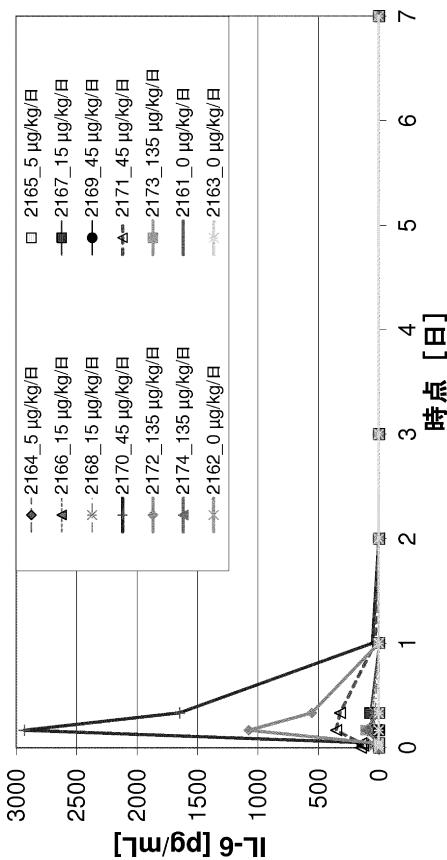
【図 A 20】



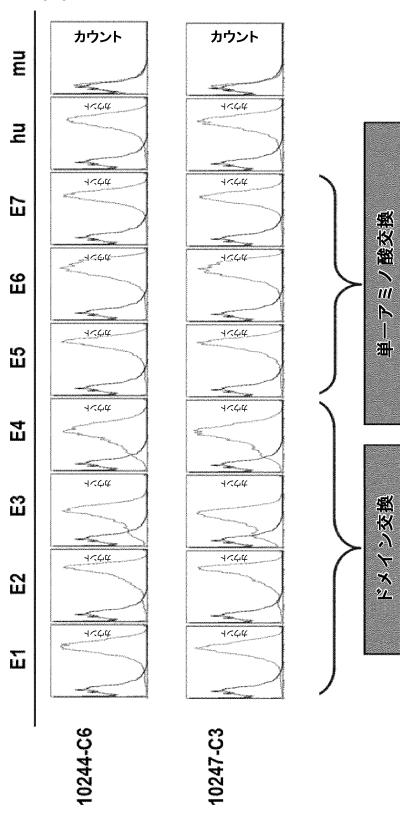
【図 A 21】



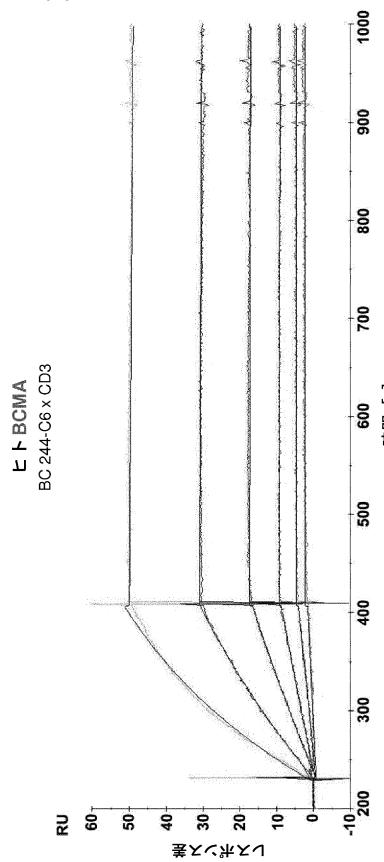
【図 A 22】



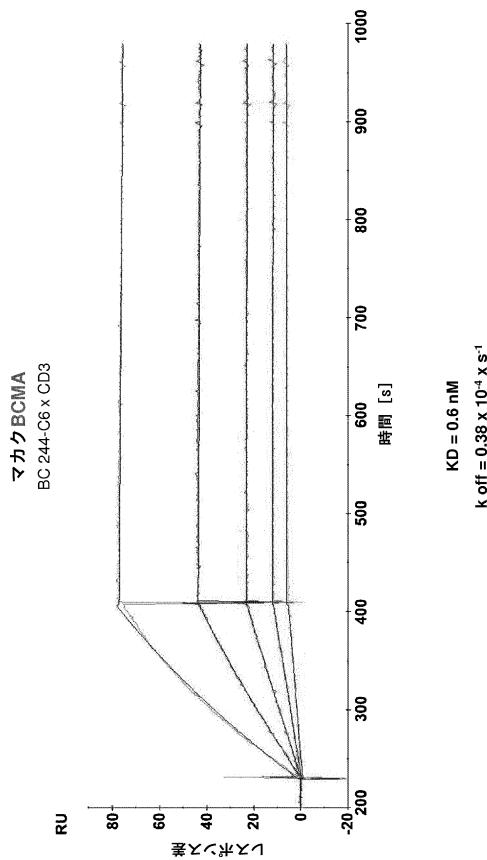
【図 D 3】



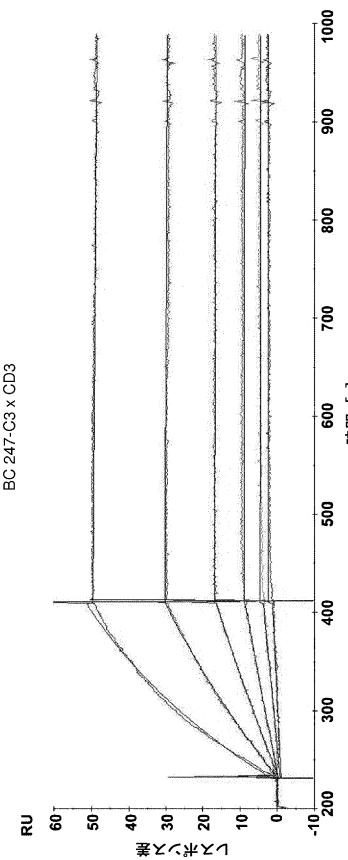
【図 D 4 - 1】


 $K_D = 0.6 \text{ nM}$
 $k_{off} = 0.38 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$

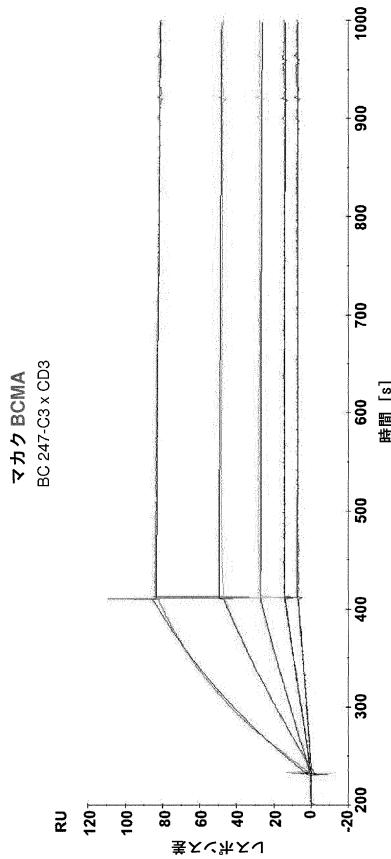
【図 D 4 - 2】


 $K_D = 0.6 \text{ nM}$
 $k_{off} = 0.38 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$

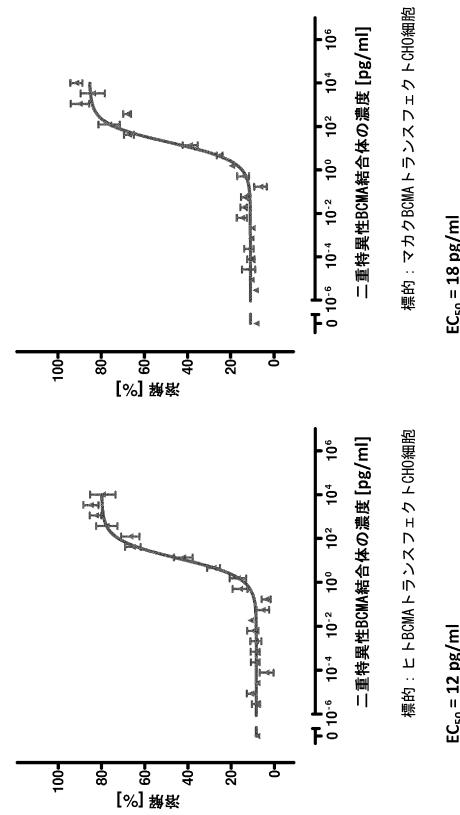
【図 D 4 - 3】


 $K_D = 0.3 \text{ nM}$
 $k_{off} = 0.34 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$

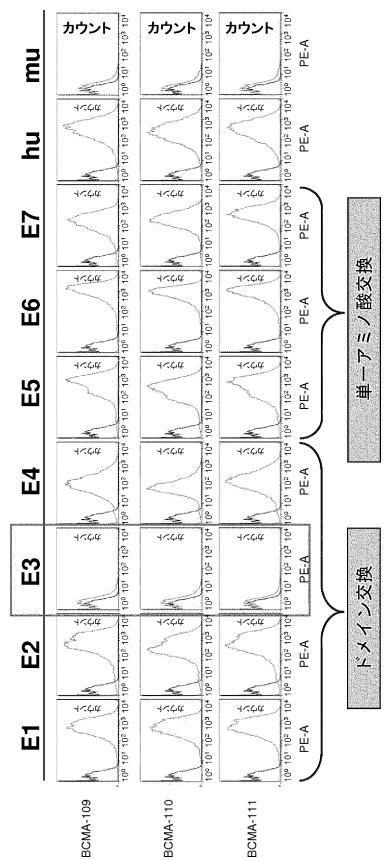
【図 D 4 - 4】



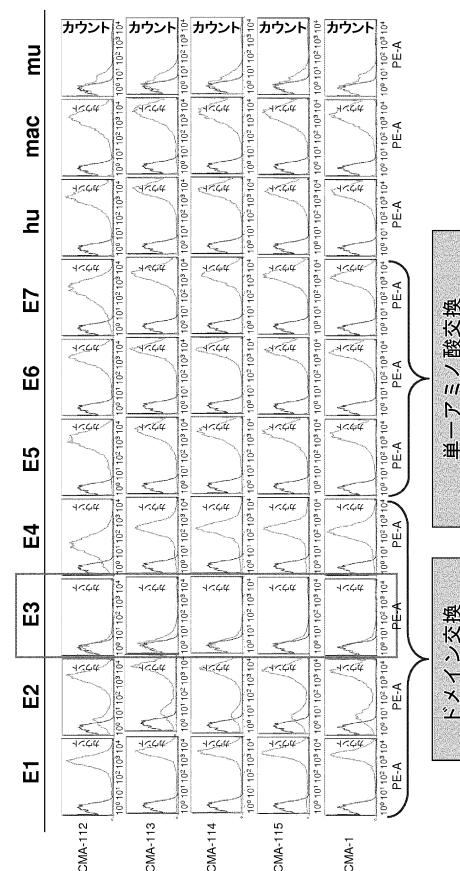
【図 D 5】



【図 E 3 - 1】



【図 E 3 - 2】

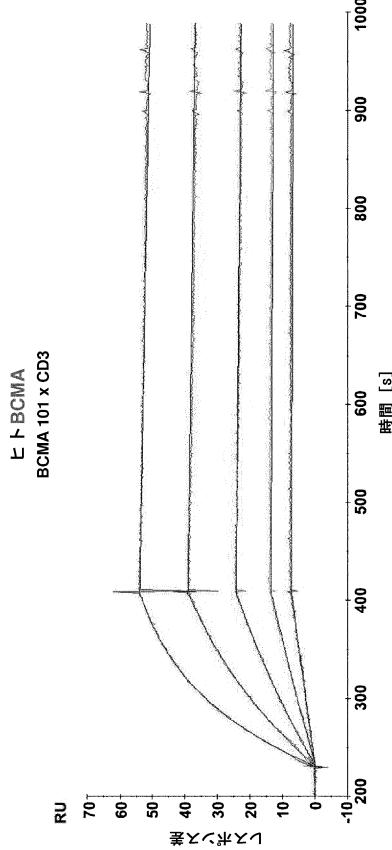
 $EC_{50} = 18 \text{ pg/ml}$ $EC_{50} = 12 \text{ pg/ml}$

二重特異性BCMA結合体の濃度 [pg/ml]

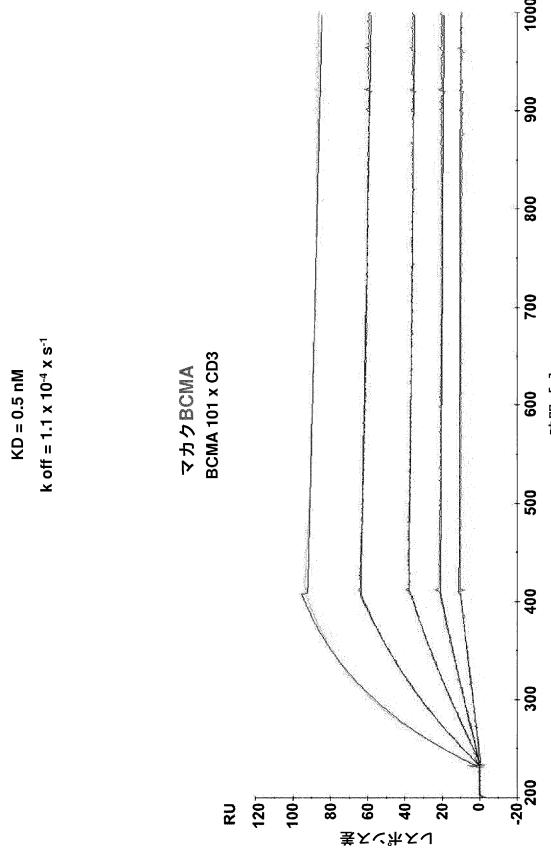
二重特異性BCMA結合体の濃度 [pg/ml]

標的: マカクBCMAトランスフェクトCHO細胞

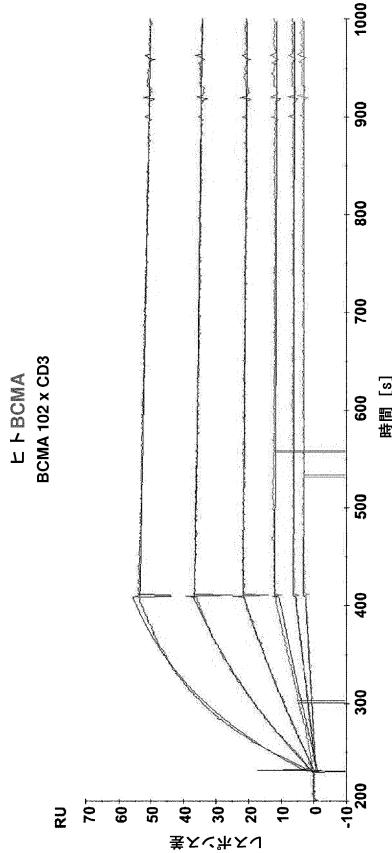
【図 E 4 - 1】



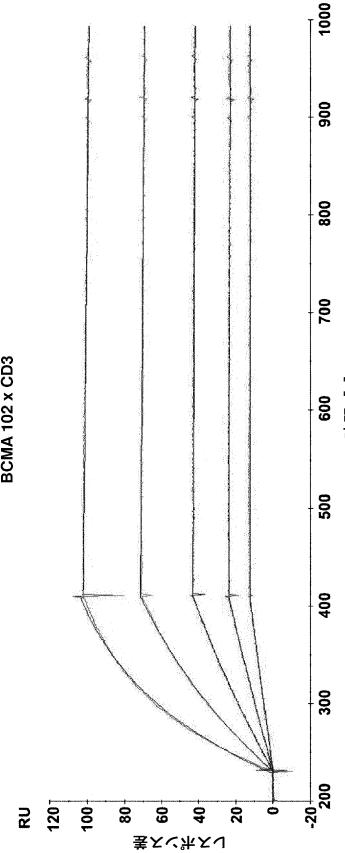
【図 E 4 - 2】



【図 E 4 - 3】



【図 E 4 - 4】



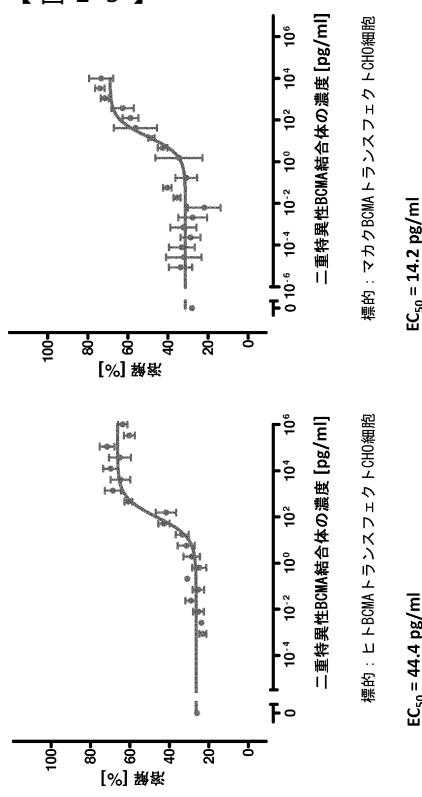
$KD = 0.8 \text{ nM}$

$k_{off} = 1.5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$

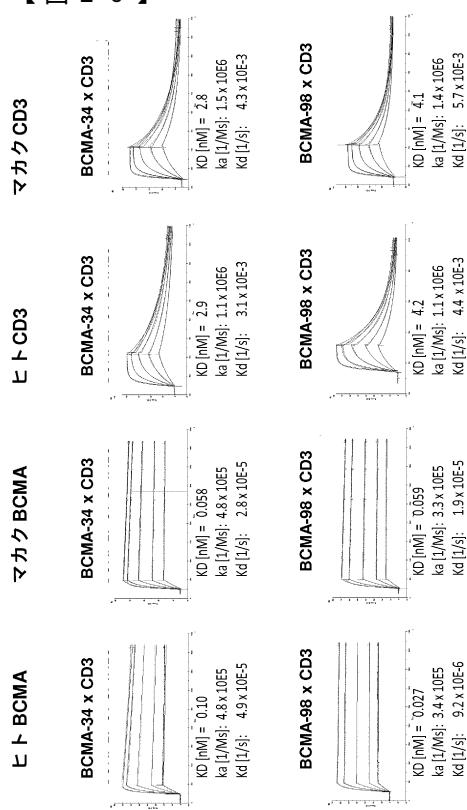
$KD = 0.3 \text{ nM}$

$k_{off} = 0.54 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$

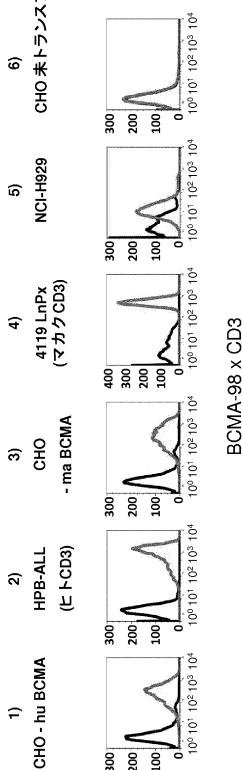
【図 E 5】



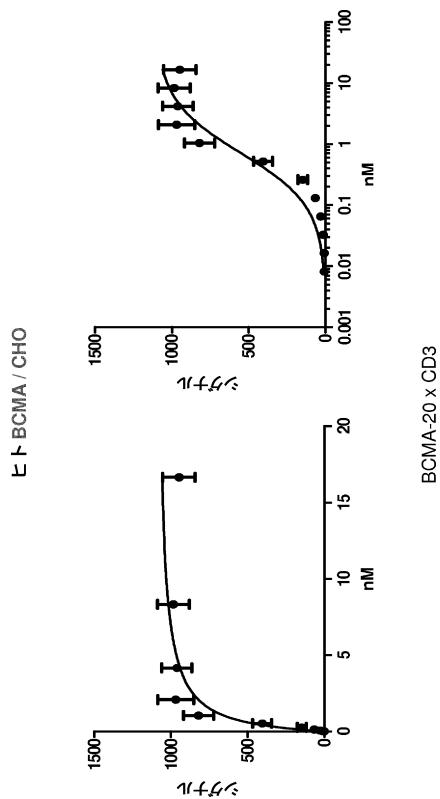
【図 E 6】



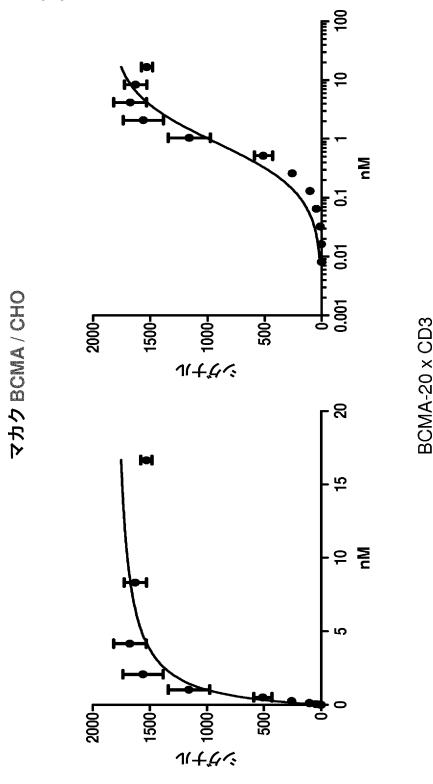
【図 E 7】



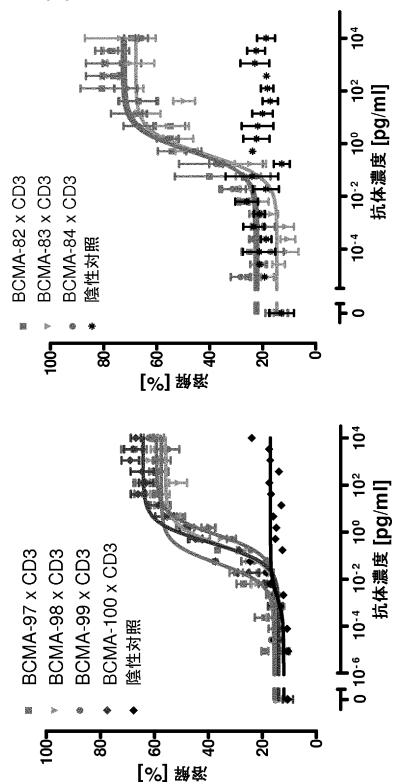
【図 E 8 - 1】



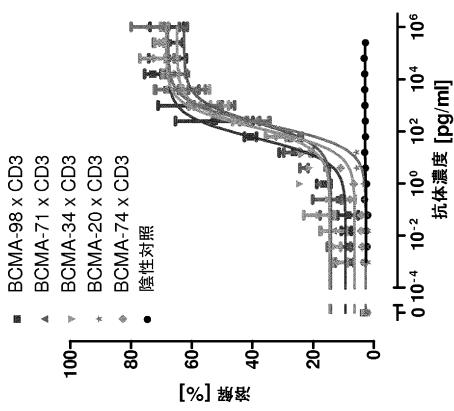
【 図 E 8 - 2 】



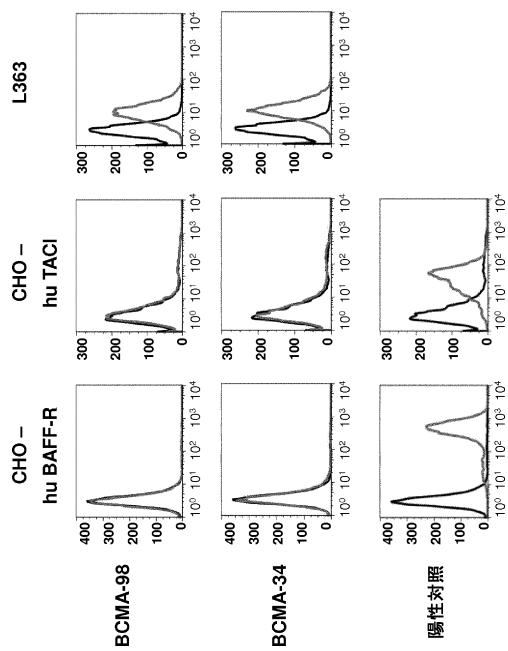
【 図 E 9 】

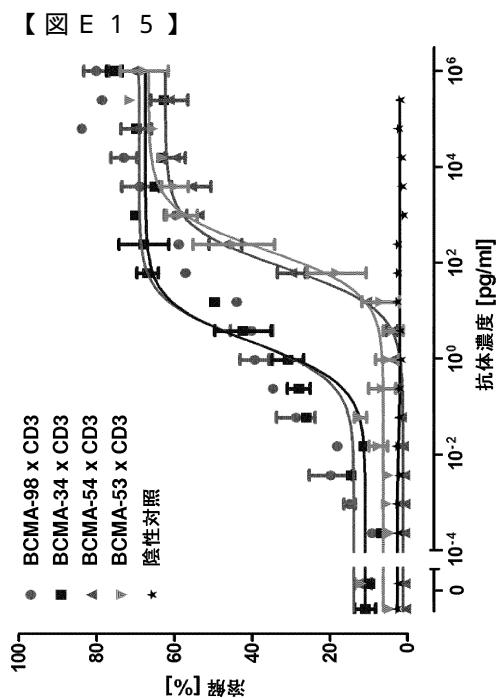
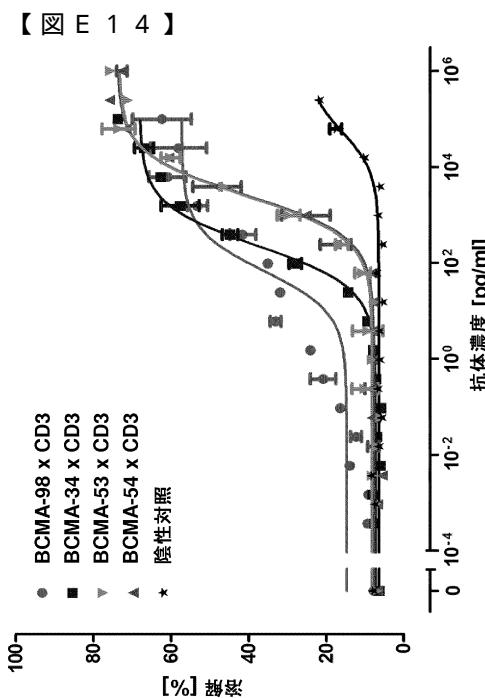
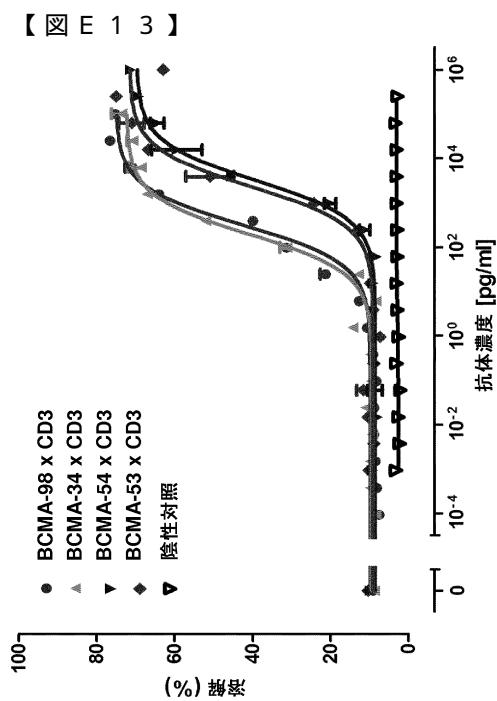
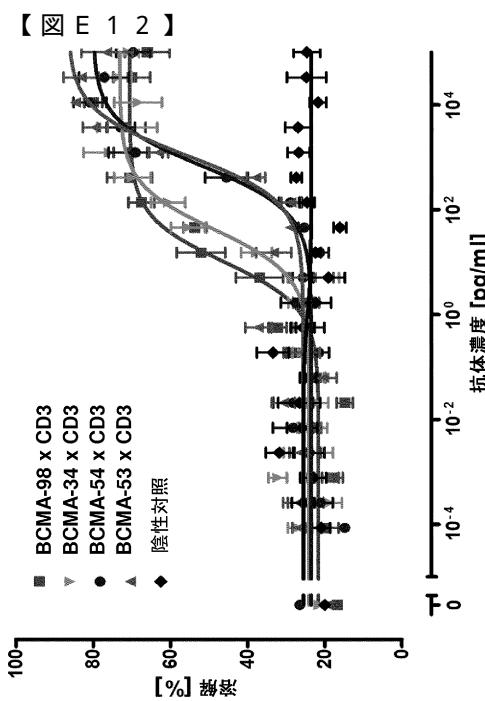


【 図 E 1 0 】

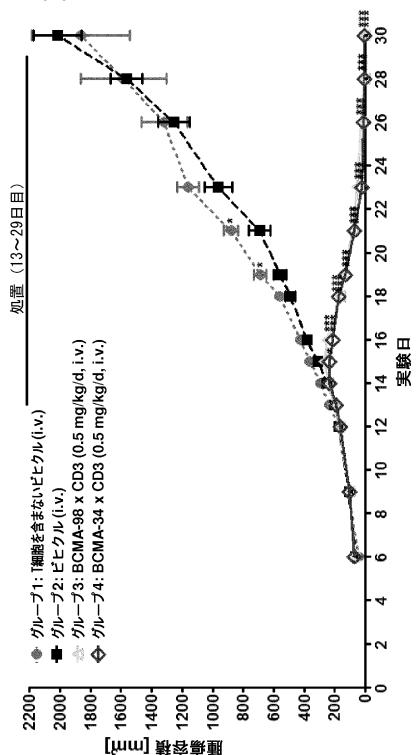


【 図 E-1-1 】

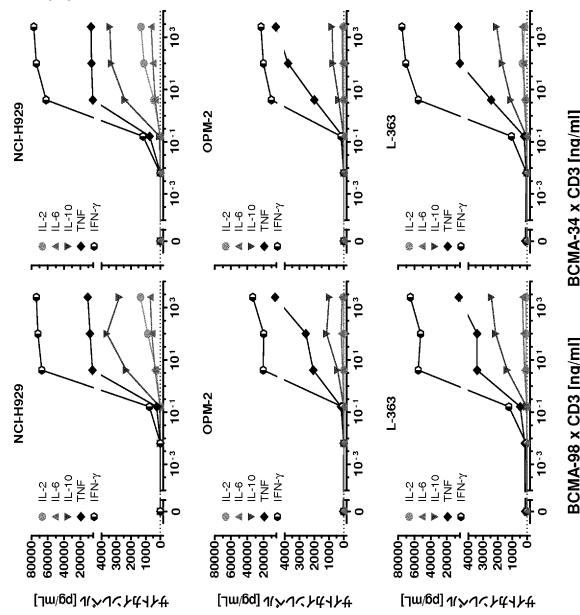




【図 E 16】



【図 E 17】



【配列表】

0006543197000001.app

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | | | F I | |
|-------------|--------|-----------|---------|--------|
| C 1 2 N | 1/19 | (2006.01) | C 1 2 N | 1/19 |
| C 1 2 N | 1/21 | (2006.01) | C 1 2 N | 1/21 |
| C 1 2 N | 5/10 | (2006.01) | C 1 2 N | 5/10 |
| C 1 2 P | 21/08 | (2006.01) | C 1 2 P | 21/08 |
| A 6 1 P | 37/02 | (2006.01) | A 6 1 P | 37/02 |
| A 6 1 P | 35/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 35/00 |
| A 6 1 P | 35/02 | (2006.01) | A 6 1 P | 35/02 |
| A 6 1 P | 17/00 | (2006.01) | A 6 1 P | 17/00 |
| A 6 1 K | 39/395 | (2006.01) | A 6 1 K | 39/395 |
| | | | | N |

(74)代理人 100102118
弁理士 春名 雅夫

(74)代理人 100160923
弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507
弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 クファー ペーター
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン シュタッフェルゼーシュトラーセ 2 アムゲン リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内

(72)発明者 ラウム トビアス
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン シュタッフェルゼーシュトラーセ 2 アムゲン リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内

(72)発明者 ホフマン パトリック
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン シュタッフェルゼーシュトラーセ 2 アムゲン リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内

(72)発明者 キッシェル ロマン
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン シュタッフェルゼーシュトラーセ 2 アムゲン リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内

(72)発明者 ルッタービューゼ ラルフ
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン シュタッフェルゼーシュトラーセ 2 アムゲン リサーチ (ミュンヘン) ゲーエムベーハー内

(72)発明者 ラウ ドリス
ドイツ連邦共和国 ミュンヘン シュタッフェルゼーシュトラーセ 2 アムゲン リサーチ (

ミュンヘン) ゲーエムベーハー内
(72)発明者 アダム パウル
ドイツ連邦共和国 イングルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 173 ベーリン
ガ- イングルハイム ゲーエムベーハー コーポレイト パテンツ内
(72)発明者 ボルグス エリック
ドイツ連邦共和国 イングルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 173 ベーリン
ガ- イングルハイム ゲーエムベーハー コーポレイト パテンツ内
(72)発明者 ヘーベイス バルバラ
ドイツ連邦共和国 イングルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 173 ベーリン
ガ- イングルハイム ゲーエムベーハー コーポレイト パテンツ内
(72)発明者 ヒップ スザンネ
ドイツ連邦共和国 イングルハイム アム ライン ビンガー シュトラーセ 173 ベーリン
ガ- イングルハイム ゲーエムベーハー コーポレイト パテンツ内

審査官 川合 理恵

(56)参考文献 國際公開第2012/066058 (WO, A1)
特表2011-523455 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/-15/90
JSTPlus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)
Caplus / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS / WPIDS (STN)
Caplus / REGISTRY (STN)