

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021年4月15日 (15.04.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/068761 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07K 16/28 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01) ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。
- (21) 国际申请号: PCT/CN2020/117757 (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- (22) 国际申请日: 2020年9月25日 (25.09.2020)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201910960313.4 2019年10月10日 (10.10.2019) CN

(71) 申请人: 苏州亲为药业有限公司 (SUZHOU QIN PHARMACEUTICALS CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市工业园区星湖街218号 A1-E286, Jiangsu 215000 (CN)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列列表部分(细则5.2(a))。

(72) 发明人: 李宁(LI, Ning); 中国江苏省苏州市工业园区苏虹东路183号东沙湖基金小镇16栋2层, Jiangsu 215000 (CN)。曹国庆(CAO, Guoqing); 中国江苏省苏州市工业园区星湖街218号 A1-E286, Jiangsu 215000 (CN)。郎国竣(LANG, Guojun); 中国上海市徐汇区桂平路333号7号楼103室, Shanghai 200233 (CN)。刘婵娟(LIU, Chanjuan); 中国上海市徐汇区桂平路333号7号楼103室, Shanghai 200233 (CN)。胡宇豪(HU, Yuhao); 中国上海市徐汇区桂平路333号7号楼103室, Shanghai 200233 (CN)。

(74) 代理人: 北京唐颂永信知识产权代理有限公司 (BEIJING TANGSONG IP FIRM); 中国北京市海淀区大柳树路17号富海国际港1602室, Beijing 100081 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,

(54) Title: HUMANIZED MONOCLONAL ANTIBODY TARGETING BCMA AND HAVING HUMAN MONKEY CROSS-REACTIVITY

(54) 发明名称: 靶向BCMA的具有人猴交叉的人源化单克隆抗体

(57) Abstract: Provided is an isolated monoclonal antibody targeting B-cell maturation antigen (BCMA). The antibody can bind to both human BCMA and monkey BCMA. Also provided are a nucleic acid encoding the antibody, a method for producing the antibody, and a pharmaceutical composition comprising the antibody.

(57) 摘要: 提供了一种分离的靶向B细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体, 该抗体既能结合人BCMA也能结合猴BCMA。还提供了编码该抗体的核酸、生产该抗体的方法, 以及包含该抗体的药物组合物。



WO 2021/068761 A1

靶向 BCMA 的具有人猴交叉的人源化单克隆抗体

5 技术领域

本发明涉及特异性结合 B 细胞成熟抗原(BCMA)，包括同时特异性结合人 BCMA 和猴 BCMA 抗原的单克隆抗体及其片段。

本发明涉及特异性结合 BCMA 并且抑制 BAFF 和 APRIL 对 BCMA 受体结合的单克隆抗体及其片段。

10 本发明还涉及特异性结合 BCMA 并且具有优异内吞效应的单克隆抗体及其片段。

背景技术

B 细胞于骨髓中成熟并成为浆细胞，能够分泌抗体对抗外来的病毒或细菌。当浆细胞发生癌变成为骨髓瘤细胞后，会不断增殖出更多恶性的骨髓瘤细胞并分泌大量无用的抗体。骨髓瘤通常生长在脊柱、颅骨、骨盆、胸腔等位置，表现为一种肿瘤或者是溶骨性病变。骨髓瘤的病情通常是渐进式，从意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)到低风险冒烟型多发性骨髓瘤再到高危冒烟型多发性骨髓瘤(SMM)，最终进展成多发性骨髓瘤(*Nature Reviews Disease Primers*, 2017, 3, 17046.)。多发性骨髓瘤(Multiple myeloma, MM)主要的表征包括高血钙症、肾功能减退、贫血、骨骼功能障碍等，伴随剧烈的骨疼痛和容易发生反复性骨折(*Nature Reviews Clinical Oncology*, 2012, 9(3), 135–143.)。据国际骨髓瘤基金会统计，仅截止 2017 年 8 月，全球患病人数达 75 万人左右，每年新发病例约为 11.40 万人，并有近 9 万人死于该疾病。

B 细胞成熟抗原(BCMA)，属于肿瘤坏死因子超家族的一员，主要表达于记忆细胞、浆母细胞和浆细胞表面，而在其他细胞表面几乎不表达，另一方面，BCMA 属于细胞表面的跨膜受体，其基因定位于 16 号染色体的 TNFRSF17 位点。有文献报道(*Blood Cancer Journal*, 2015, 5(2), e282–e282.)，BCMA 缺陷的小鼠在表观和 B 细胞数量上都较为正常，但其浆细胞的存活

能力极差。

BCMA 的配体包括 B 细胞活化因子(BAFF)和诱导增殖配体(APRIL)。其中, BAFF 的受体还包括 BAFF-R 和 TACI, APRIL 的受体还包括 TACI。BCMA 信号通路主要的作用是促进 B 细胞的生存、分化和调节性 T 细胞的激活等,相反的, TACI 信号通路抑制 B 细胞的成熟(*Nature reviews immunology*, 2009, 9(7): 491.)。对于这三种受体而言(BAFF-R、TACI 和 BCMA), 在 B 细胞发育过程中, 未成熟 B 细胞、迁移中的 B 细胞和初始 B 细胞表面只表达 BAFF-R; GC B 细胞表面均有表达 BAFF-R 和 BCMA; 记忆细胞表面均有表达 BAFF-R、TACI 和 BCMA; 浆母细胞或浆细胞表面均表达 TACI 和 BCMA; 而当浆细胞发生癌变成为多发性骨髓瘤细胞后, 其表面高度表达 BCMA, 有可能表达 TACI 而不表达 BAFF-R(*Nature reviews immunology*, 2009, 9(7): 491.)。由此可知, 大部分的 B 细胞都不表达 BCMA, 另外, 研究表明其他器官的细胞也几乎不表达 BCMA。临床上, 多发性骨髓瘤病人血清中 BCMA、BAFF 和 APRIL 的含量更高且总生存期和预后更差。因此, 在治疗多发性骨髓瘤方面, BCMA 是一种优于 CD19 等的新靶点, 其特异性高且靶点副作用更小。因此, 开发针对 BCMA 靶点的具有阻断效应或内吞效应的抗体药物不仅能够提高多发性骨髓瘤的治疗效果, 还能极大降低治疗的副作用, 并且可以产生巨大的经济和社会价值。

目前, 在 ADC(抗体药物偶联物(antibody-drug conjugate, ADC))药物方面, Glaxo Group 公司和 Seattle Genetics 公司共同开发的 Belantamab mafodotin(简称为 GSK2857916)效果显著, 在 35 例过度预处理(大多数患者至少接受了 5 种疗法且治疗失败)R/R MM 患者中, ORR 达到了 60%, 中位 PFS(Progression-Free-Survival(无进展生存期))为 12 个月(NCT03848845)。在 CAR-T 细胞方面, 新基和蓝鸟生物的 CAR-T 细胞疗法 Idecabtagene vicleucel(简称为 bb2121), 在 33 例既往已接受至少 3 种疗法失败的 R/R MM 患者中, 总缓解率达到了 85%, 中位 PFS 为 11.8 个月(NCT02658929)。在双特异性抗体方面, 安进的 AMG 420 是进展最快的疗法, 这类抗体较传统抗体小, 由两个抗体域片段连接而成, 具有很好的活性, 但半衰期比全长抗体短(NCT02514239)。就临床结果而言, 针对 BMCA 靶点的药物, 无论是单抗、双抗、ADC 还是 CAR-T 细胞治疗, 都取得了令人瞩目的结果, 并且临床结果表明, BCMA 靶点带来的副作用也远低于其他靶点。

发明内容

基于上述背景，本发明意在开发出新型的靶向 BCMA 的抗体。

5 本发明以 BCMA 作为免疫原免疫小鼠，通过噬菌体展示技术，构建并筛选抗体文库，获得同时结合人和猴 BCMA 抗原的单克隆抗体。后续通过抗体人源化改造，将鼠源单克隆抗体改造为人源化抗体，通过亲和、阻断和
10 内吞等功能实验证实人源化候选抗体表现出了优异的功能，在细胞水平的内吞功能优于竞品 GSK2857916。

本说明书内公开的所有专利和参考文献通过引用清楚和完整地并入本
10 文。

在本发明涉及一种分离的靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体，其中，所述抗体既能结合人 BCMA 也能结合猴 BCMA。

在一具体方面中，本发明的抗体包含重链可变区，所述重链可变区包含
15 SEQ ID NO: 1 或 2 所示的重链互补决定区 1(CDR-H1)，和/或包含 SEQ ID NO: 3 或 4 所示的重链互补决定区 2(CDR-H2)，和/或包含 SEQ ID NO: 5 或 6 所示的重链互补决定区 3(CDR-H3)。

在一具体方面中，本发明的抗体包含轻链可变区，所述轻链可变区包含
20 SEQ ID NO: 7 或 8 所示的轻链互补决定区 1(CDR-L1)，和/或包含 SEQ ID NO: 9 或 10 所示的轻链互补决定区 2(CDR-L2)，和/或包含 SEQ ID NO: 11 或 12 所示的轻链互补决定区 3(CDR-L3)。

在一具体方面中，本发明的抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中，
25 所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 或 2 所示的重链互补决定区 1(CDR-H1)，和/或包含 SEQ ID NO: 3 或 4 所示的重链互补决定区 2(CDR-H2)，和/或包含 SEQ ID NO: 5 或 6 所示的重链互补决定区 3(CDR-H3)；所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 或 8 所示的轻链互补决定区 1(CDR-L1)，和/或包含 SEQ ID NO: 9 或 10 所示的轻链互补决定区 2(CDR-L2)，和/或包含 SEQ ID NO: 11 或 12 所示的轻链互补决定区 3(CDR-L3)。

在一具体方面中，本发明的抗体包含上述抗体的变体，且具备与上述本
30 发明所述的抗体相同或相似的活性。

在一具体方面中，本发明的抗体包含轻链可变区，所述轻链可变区包含
30 SEQ ID NO: 13 或 14 所示的氨基酸序列、或上述序列的变体。

在一具体方面中，本发明的抗体包含重链可变区，所述重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16 所示的氨基酸序列、或上述序列的变体。

在一具体方面中，本发明的抗体包含轻链可变区和重链可变区，其中，所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 13 或 14 所示的氨基酸序列、或上述序列的变体，所述重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16 所示的氨基酸序列、或上述序列的变体。

在一具体方面中，本发明的抗体的重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 所示的 CDR-H1, SEQ ID NO: 3 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 5 所示的 CDR-H3。

在一具体方面中，本发明的抗体的重链可变区包含 SEQ ID NO: 2 所示的 CDR-H1, SEQ ID NO: 4 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 6 所示的 CDR-H3。

在一具体方面中，本发明的抗体的轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 所示的 CDR-L1, SEQ ID NO: 9 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 11 所示的 CDR-L3。

在一具体方面中，本发明的抗体的轻链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示的 CDR-L1, SEQ ID NO: 10 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 12 所示的 CDR-L3。

在一具体方面中，本发明的抗体的轻链可变区具有 SEQ ID NO: 13 或 14 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。

在一具体方面中，本发明的抗体的重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。

在一具体方面中，本发明的抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中，重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 所示的 CDR-H1, SEQ ID NO: 3 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 5 所示的 CDR-H3; 轻链可变区包含包含 SEQ ID NO: 7 所示的 CDR-L1, SEQ ID NO: 9 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 11 所示的 CDR-L3。

进一步，所述抗体的轻链可变区具有 SEQ ID NO: 13 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列；所述抗体的重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序

列。

在一具体方面中，本发明的抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中，重链可变区包含 SEQ ID NO: 2 所示的 CDR-H1，SEQ ID NO: 4 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 6 所示的 CDR-H3；轻链可变区包含包含 SEQ ID NO: 8 所示的 CDR-L1，SEQ ID NO:10 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 12 所示的 CDR-L3。

进一步，所述抗体的轻链可变区具有 SEQ ID NO: 14 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列；所述抗体的重链可变区具有 SEQ ID NO: 16 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。

本发明还涉及一种靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体，该抗体与上述本发明所述的抗体识别相同的抗原决定部位。

15 本发明还涉及一种靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体，该抗体与上述本发明所述的抗体竞争性结合 B 细胞成熟抗原(BCMA)。

本发明还涉及编码上述本发明的抗体的核酸。

本发明还涉及一种表达载体，其包含上述本发明所述的核酸。

20 本发明还涉及一种宿主细胞，其包含上述本发明所述的表达载体或基因组中整合有本发明所述的核酸。

本发明还涉及一种生产单克隆抗体的方法，所述方法包括培养本发明所述的宿主细胞从而生产上述本发明所述的单克隆抗体。

本发明还涉及一种药物组合物，其包含本发明所述的单克隆抗体和药学上可接受的载体。

25 本发明还涉及一种药盒或制品，其包括本发明所述的单克隆抗体或本发明所述的药物组合物。

本发明还涉及一种治疗与 BCMA 的表达相关的疾病的方法，其包括：向有此需要的受试者给药本发明所述的单克隆抗体或本发明所述的药物组合物或本发明所述的药盒或制品。

30 在一具体方面，上述疾病选自 B 细胞急性淋巴性白血病、T 细胞急性淋巴性白血病、急性淋巴性白血病、慢性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、

B 细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥散性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病，小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、恶性淋巴增殖状况、MALT 淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨髓瘤、MGUS、浆细胞瘤、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性和 POEMS 综合征。

在一具体方面，上述疾病为多发性骨髓瘤。

本发明还涉及本发明的单克隆抗体在制备用于治疗与 BCMA 的表达相关的疾病的药物中的用途。

在一具体方面，上述疾病选自 B 细胞急性淋巴性白血病、T 细胞急性淋巴性白血病、急性淋巴性白血病、慢性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、B 细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥散性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病，小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、恶性淋巴增殖状况、MALT 淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨髓瘤、MGUS、浆细胞瘤、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性和 POEMS 综合征。

在一具体方面，上述疾病为多发性骨髓瘤。

具体来说，本发明涉及如下方面：

1. 一种分离的靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体，其中，所述抗体既能结合人 BCMA 也能结合猴 BCMA。

2. 根据项 1 所述的单克隆抗体，所述抗体选自以下的任一种：

(1) 抗体，其包含重链可变区，所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 或 2 所示的重链互补决定区 1(CDR-H1)，和/或包含 SEQ ID NO: 3 或 4 所示的重链互补决定区 2(CDR-H2)，和/或包含 SEQ ID NO: 5 或 6 所示的重链互补决定区 3(CDR-H3)；

(2) 抗体，其包含轻链可变区，所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 或 8 所示的轻链互补决定区 1(CDR-L1)，和/或包含 SEQ ID NO: 9 或 10 所示的轻链互补决定区 2(CDR-L2)，和/或包含 SEQ ID NO: 11 或 12 所示的轻链互补

决定区 3(CDR-L3);

(3) 抗体, 包含(1)所述抗体的重链可变区及(2)所述抗体的轻链可变区;

(4) 抗体, (1)~(3)中任一项所述的抗体的变体, 且具备与(1)~(3)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

3. 如项 1 或 2 所述的抗体, 其特征在于, 所述抗体选自以下的任一种:

(1) 抗体, 包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 13 或 14 所示的氨基酸序列、或上述序列的变体;

(2) 抗体, 包含重链可变区, 所述重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16 所示的氨基酸序列、或上述序列的变体;

(3) 抗体, 包含(1)所述抗体的重链可变区及(2)所述抗体的轻链可变区。

4. 如项 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 所示的 CDR-H1, SEQ ID NO: 3 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 5 所示的 CDR-H3。

5. 如项 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的重链可变区包含 SEQ ID NO: 2 所示的 CDR-H1, SEQ ID NO: 4 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 6 所示的 CDR-H3。

6. 如项 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 所示的 CDR-L1, SEQ ID NO: 9 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 11 所示的 CDR-L3。

7. 如项 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的轻链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示的 CDR-L1, SEQ ID NO: 10 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 12 所示的 CDR-L3。

8. 根据项 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的轻链可变区具有 SEQ ID NO: 13 或 14 所示的序列, 或具有与上述任一序列至少 80%, 例如, 85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。

9. 根据项 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16 所示的序列, 或具有与上述任一序列至少 80%, 例如, 85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、

98%、99%相似性的序列。

10. 一种靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体，其特征在于，该抗体与项 1-9 中任一项所述的抗体识别相同的抗原决定部位。

5 11. 一种靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体，其特征在于，该抗体与项 1-9 中任一项所述的抗体竞争性结合 B 细胞成熟抗原(BCMA)。

12. 编码项 1-11 中任一项所述的抗体的核酸。

13. 一种表达载体，其包含项 12 所述的核酸。

14. 一种宿主细胞，其包含项 13 所述的表达载体或基因组中整合有项 12 所述的核酸。

10 15. 一种生产单克隆抗体的方法，所述方法包括培养根据项 14 所述的宿主细胞从而生产根据项 1~11 中任一项所述的单克隆抗体。

16. 一种药物组合物，其包含根据项 1~11 中任一项所述的单克隆抗体和药学上可接受的载体。

15 17. 一种药盒或制品，其包括根据项 1~11 中任一项所述的单克隆抗体或根据项 16 所述的药物组合物。

18. 一种治疗与 BCMA 的表达相关的疾病的方法，其包括：

向有此需要的受试者给药根据项 1~11 中任一项所述的单克隆抗体或根据项 16 所述的药物组合物或项 17 所述的药盒或制品。

20 19. 根据项 18 所述的方法，其中，所述疾病选自 B 细胞急性淋巴性白血病、T 细胞急性淋巴性白血病、急性淋巴性白血病、慢性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、B 细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病，小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、恶性淋巴增殖状况、MALT 淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨髓瘤、MGUS、浆细胞瘤、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性和 POEMS 综合征。

20. 根据项 18 或 19 所述的方法，其中，所述疾病为多发性骨髓瘤。

30 21. 根据项 1~11 中任一项所述的单克隆抗体在制备用于治疗与 BCMA 的表达相关的疾病的药物中的用途。

22. 根据项 21 所述的用途，其中，所述疾病选自 B 细胞急性淋巴性白

血病、T细胞急性淋巴性白血病、急性淋巴性白血病、慢性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、恶性淋巴增殖状况、MALT

5 淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突状细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨髓瘤、MGUS、浆细胞瘤、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性和 POEMS 综合征。

23. 根据项 21 或 22 所述的用途，其中，所述疾病为多发性骨髓瘤。

10

本发明的效果

相比于 Belantamab mafodotin 抗体(简称为 GSK2857916)，本发明涉及的抗体既能结合人 BCMA 也能结合猴 BCMA，在亲和水平方面，与之接近甚至更好。本发明涉及的抗体在阻断 BCMA 结合其配体 BAFF 或 APRIL 效果

15 方面，与 GSK2857916 接近甚至更好。本发明涉及的抗体在内吞效果方面，具有比 GSK2857916 更好的内吞效果。本发明涉及的抗体在热稳定性方面，具有比 GSK2857916 更好的热稳定性。本发明涉及的抗体，在免疫原性方面，为人源化后的抗体，具有更低的免疫原性。

20 附图说明

图 1 显示抗体产生的过程，显示靶向 BCMA 的具有人猴交叉的抗体产生的过程。

图 2 显示重组蛋白 BCMA、BAFF 和 APRIL 活性测定，结果显示各蛋白活性正常。图 2(A)显示不同标签(Fc 和 His)的人和猴 BCMA 抗原和阳性对照抗体 GSK2857916 的结合结果。图 2(B)显示人 BCMA 抗原和不同浓度包板的 BAFF 的结合结果。图 2(C)显示人 BCMA 抗原和不同浓度包板的 APRIL 的结合结果。

25

图 3 显示候选抗体与过表达人或猴 BCMA 的细胞结合测定，结果表明候选抗体具有人猴交叉的特性。图 3(A)显示通过 FACS 确定部分候选抗体与过表达人 BCMA 的 HEK293 细胞的结合。图 3(B)显示通过 FACS 确定部分

30 候选抗体与过表达猴 BCMA 的 CHO 细胞的结合。

图 4 显示部分候选抗体与人、猴 BCMA 交叉亲和活性检测结果。图 4(A)显示部分候选抗体在 Elisa 水平上与人 BCMA 的亲和效果，结果表明，部分候选抗体相比于 GSK2857916 抗体有接近甚至更好的亲和效果。图 4(B)显示部分候选抗体在 Elisa 水平上与猴 BCMA 的亲和效果，结果表明，部分候选抗体相比于 GSK2857916 抗体有接近甚至更好的亲和效果。

图 5 显示部分候选抗体阻断效果检测结果。图 5(A)显示部分候选抗体在 Elisa 水平上阻断 BCMA 与 BAFF 的结合，结果表明，部分候选抗体相比于 GSK2857916 抗体有接近甚至更好的阻断效果。图 5(B)和显示部分候选抗体在 Elisa 水平上阻断 BCMA 与 APRIL 的结合，结果表明，部分候选抗体相比于 GSK2857916 抗体有接近甚至更好的阻断效果。

图 6 显示内吞效果测定结果。图 6(A)和(B)显示部分候选抗体在人骨髓瘤细胞系 H929 细胞上的内吞效果，结果表明，部分候选抗体相比于 GSK2857916 抗体有更好的内吞效果。

图 7 显示候选抗体各个功能汇总，其中图 7 展示了部分候选抗体在表达人 BCMA 的 HEK293 细胞上的亲和效果，表达猴 BCMA 的 CHO 细胞上的亲和效果，Elisa 水平上和人、猴 BCMA 的亲和效果，Elisa 水平上阻断 BAFF 与 BCMA 结合的效果、Elisa 水平上阻断 APRIL 与 BCMA 结合的效果，以及抗体在人骨髓瘤细胞 H929 上的内吞效果；其中‘+’数量从多到少，代表抗体亲和、阻断及内吞效果由强到弱，结果表明，抗体 SY14-3rd-5-6-7 和 SY14-3rd-5-6-32 表现出了更优异的综合效果。

图 8 显示人源化后抗体(5-6-7-hu-2)与人、猴 BCMA 交叉亲和活性检测结果。图 8(A)显示检测 SY14-3rd-5-6-7(又称 5-6-7 或 5-6-7-WT)抗体人源化前后，在 Elisa 水平上与人 BCMA 的亲和效果，结果表明，抗体人源化后与人 BCMA 的亲和力和人源化前保持一致。图 8(B)显示检测 SY14-3rd-5-6-7 抗体人源化前后，在 Elisa 水平上与猴 BCMA 的亲和效果，结果表明，抗体人源化后与猴 BCMA 的亲和力和人源化前保持一致。

图 9 显示人源化后抗体(5-6-32-hu-2)与人、猴 BCMA 交叉亲和活性检测结果，图 9(A)显示检测 SY14-3rd-5-6-32(又称 5-6-32 或 5-6-32-WT)抗体人源化前后，在 Elisa 水平上与人 BCMA 的亲和效果，结果表明，抗体人源化后与人 BCMA 的亲和力依旧优于阳性抗体(GSK2857916)。图 9(B)检测 SY14-3rd-5-6-32 抗体人源化前后，在 Elisa 水平上与猴 BCMA 的亲和效果，

结果表明，抗体人源化后与猴 BCMA 的亲和力依旧优于阳性抗体 GSK2857916。

图 10 显示人源化后抗体(5-6-7-hu-2)阻断效果检测结果，图 10(A)显示检测 SY14-3rd-5-6-7(又称 5-6-7 或 5-6-7-WT)抗体人源化后，在 Elisa 水平上阻断 BCMA 与 BAFF 结合的能力，结果表明，抗体人源化后阻断 BCMA 结合 BAFF 的效果稍差于阳性抗体 (GSK2857916)。图 10(B)显示检测 SY14-3rd-5-6-7 抗体人源化后，在 Elisa 水平上阻断 BCMA 与 APRIL 结合的能力，结果表明，抗体人源化后阻断 BCMA 结合 APRIL 的效果稍差于阳性抗体(GSK2857916)。

图 11 显示人源化后抗体(5-6-32-hu-2)阻断效果检测结果，图 11(A)显示检测 SY14-3rd-5-6-32(又称 5-6-32 或 5-6-32-WT)抗体人源化后，在 Elisa 水平上阻断 BCMA 与 BAFF 结合的能力，结果表明，抗体人源化后阻断 BCMA 结合 BAFF 的效果稍差于阳性抗体 (GSK2857916)。图 11(B)显示检测 SY14-3rd-5-6-32 抗体人源化后，在 Elisa 水平上阻断 BCMA 与 APRIL 结合的能力，结果表明，抗体人源化后阻断 BCMA 与 APRIL 的效果稍差于阳性抗体(GSK2857916)。

图 12 显示人源化前后抗体在高表达人、猴 BCMA 的细胞结合活性测定结果，图 12(A)显示检测 5-6-7 和 5-6-32 抗体人源化前后与过表达人 BCMA 的 HEK293 细胞的结合能力，结果表明抗体人源化后与之的结合能力和人源化前保持一致并且优于 GSK2857916 抗体。图 12(B)显示检测 5-6-7 和 5-6-32 抗体人源化前后与过表达猴 BCMA 的 CHO 细胞的结合能力，结果表明抗体人源化后与之的结合能力和人源化前保持一致并且优于 GSK2857916 抗体。图 12(C)显示检测 5-6-7 和 5-6-32 抗体人源化前后与骨髓瘤细胞系 H929 细胞的结合能力，结果表明抗体人源化后与之的结合能力和人源化前保持一致并且优于 GSK2857916 抗体。

图 13 显示抗体人源化前后在 H929 细胞上的内吞效果测定结果，图 13(A)显示检测 5-6-7 抗体人源化前后，在表达 BCMA 的人骨髓瘤细胞系 H929 细胞上内吞的效果，结果表明抗体人源化后内吞效果和人源化前保持一致并且优于 GSK2857916 抗体。图 13(B)显示检测 5-6-32 抗体人源化前后，在表达 BCMA 的人骨髓瘤细胞系 H929 细胞上内吞的效果，结果表明抗体人源化后内吞效果和人源化前保持一致并且优于 GSK2857916 抗体。

图 14 显示人源化抗体各个功能汇总结果，图 14 展示了人源化抗体的人源化程度，在表达人 BCMA 的 HEK293 细胞上的亲和效果，在表达猴 BCMA 的 CHO 细胞上的亲和效果，在 Elisa 水平上和人、猴 BCMA 的亲和效果，阻断 BAFF 与 BCMA 结合效果、阻断 APRIL 与 BCMA 结合效果，以及抗体在人骨髓瘤细胞 H929 上的内吞效果；其中‘+’数量从多到少，代表抗体亲和、阻断及内吞效果由强至弱。结果表明，抗体人源化后各个功能和人源化前保持一致，人源化抗体部分功能接近或优于 GSK2857916 抗体。

具体实施方式

为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚明白，以下结合具体实施例，并参照附图，对本发明作进一步的详细说明。

本说明书中提及的科技术语具有与本领域技术人员通常理解的含义相同的含义，如有冲突以本说明书中的定义为准。

一般而言，本说明书中采用的术语具有如下含义。

在本说明书中，“分离的”抗体是已经与它的天然环境的组分分离的抗体。在某些实施方案中，将抗体纯化至大于 95%或 99%纯度，所述纯度通过例如电泳(例如，SDS-PAGE 等电聚焦(IEF)、毛细管电泳)或色谱(例如，离子交换或反相 HPLC)来确定。

本文中的术语“BCMA”，也是 B 细胞成熟抗原，也称为 CD269，是肿瘤坏死因子受体超家族成员，即 TNFRSF17(Thompson 等人, *J.Exp.Medicine*,192(1):129-135,2000)。人 BCMA 几乎排他性地在浆细胞和多发性骨髓瘤细胞中表达(参见例如 Novak 等人, *Blood*,103(2):689-694,2004; Neri 等人, *Clinical Cancer Research*,73(19):5903-5909 ; Felix 等人, *Mol.Oncology*,9(7):1348-58,2015)。BCMA 可结合 B 细胞活化因子(BAFF)和增殖诱导配体 (APRIL)(例如 Mackay 等人,2003 和 Kalled 等人, *Immunological Review*,204:43-54,2005)。BCMA 可以是针对多发性骨髓瘤的免疫治疗剂的合适肿瘤抗原靶标。

“抗原(Ag)”是指可以刺激动物中的抗体产生或 T 细胞应答的化合物、组合物或物质，包括注射或吸收到动物中的组合物(例如包括癌症特异性蛋白的组合物)。抗原与特异性体液或细胞免疫的产物(包括由异源抗原(例如所公开的抗原)诱导的产物)反应。在特定实施例中，靶抗原是 BCMA 多肽的表位。

“表位”或“抗原决定子”是指抗原的被结合剂结合的区。表位可以由连续氨基酸或经蛋白质的三级折叠并接的不连续氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位在暴露于变性溶剂时通常保留，而通过三级折叠形成的表位在用变性溶剂处理时通常消失。表位通常在独特空间构象中包括至少 3 个，并且更通常至少 5 个、约 9 个或约 8-10 个氨基酸。

抗体包括其抗原结合片段，例如骆驼 Ig、Ig NAR、Fab 片段、Fab' 片段、F(ab)'₂ 片段、F(ab)'₃ 片段、Fv、单链 Fv 蛋白(“scFv”)、双-scFv、(scFv)₂、微型抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、二硫键稳定的 Fv 蛋白(“dsFv”)和单结构域抗体(sdAb, 纳米抗体)以及负责抗原结合的全长抗体的部分。所述术语还包括经遗传工程改造的形式，例如嵌合抗体(例如人类化鼠抗体)、杂结合抗体(例如双特异性抗体)和其抗原结合片段。还参看皮尔斯目录与手册(Pierce Catalog and Handbook),1994-1995(皮尔斯化学公司(Pierce Chemical Co.),罗克福德(Rockford),伊利诺伊州(IL)); Kuby,免疫学杂志,第 3 版,W.H.弗里曼公司(W.H.Freeman&Co.),纽约,1997。

如技术人员所理解并且如本文别处所描述，完全抗体包含两个重链和两个轻链。每个重链由可变区以及第一、第二和第三恒定区组成，而每个轻链由可变区和恒定区组成。哺乳动物重链分类为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 。哺乳动物轻链分类为 λ 或 κ 。包含 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 重链的免疫球蛋白分类为免疫球蛋白(Ig)A、IgD、IgE、IgG 和 IgM。完全抗体形成“Y”形状。Y 的茎由两个重链的第二和第三恒定区(并且对于 IgE 和 IgM，第四恒定区)结合在一起组成，并且二硫键(链间)在铰链中形成。重链 γ 、 α 和 δ 具有由三个串联(成一行)Ig 结构域构成的恒定区，和用于增加柔性的铰链区；重链 μ 和 ϵ 具有由四个免疫球蛋白结构域构成的恒定区。第二和第三恒定区分别称为“CH₂ 结构域”和“CH₃ 结构域”。Y 的每个臂包括结合到单个轻链的可变和恒定区的单个重链的可变区和第一恒定区。轻链和重链的可变区负责抗原结合。

轻链和重链可变区含有间杂有三个高变区(也称为“互补决定区”或“CDR”)的“构架”区。CDR 可以通过常规方法定义或鉴别，例如通过根据 Kabat 等人的序列(Wu,TT 和 Kabat,E.A.,实验医学杂志 132(2):211-50,(1970); Borden,P.和 Kabat E.A.,PNAS,84:2440-2443(1987); 参看 Kabat 等人,免疫学感兴趣的蛋白质的序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest),美国卫生和公众服务部(U.S.Department of Health and Human Services),1991，其在此

以引用的方式并入), 或通过根据 Chothia 等人的结构(Chothia,C.和 Lesk,A.M., 分子生物学杂志(J Mol.Biol.),196(4):901-917(1987); Chothia,C.等人,自然(Nature),342:877-883(1989))。

不同轻链或重链的构架区的序列在物种(例如人类)内具有相对保存性。

5 抗体的构架区(其是成分轻链和重链的组合构架区)用以在三维空间中定位和
比对 CDR。CDR 主要负责结合到抗原的表位。每个链的 CDR 通常称为
CDR1、CDR2 和 CDR3, 从 N 末端开始依序编号, 并且通常还通过特定 CDR
所位于的链鉴别。因此, 位于抗体的重链的可变结构域中的 CDR 称为
10 CDR-H1、CDR-H2 和 CDR-H3, 而位于抗体的轻链的可变结构域中的 CDR
称为 CDR-L1、CDR-L2 和 CDR-L3。具有不同特异性(即针对不同抗原有不
同组合位点)的抗体具有不同 CDR。尽管抗体与抗体之间的 CDR 不同, 但
CDR 内仅有限数目的氨基酸位置直接参与抗原结合。CDR 内的这些位置称
为特异性决定残基(SDR)。适用于构建本文所涵盖的人类化 BCMA CAR 的
15 轻链 CDR 的说明性实例包括(但不限于)SEQ ID NO:1-3 中所阐述的 CDR 序
列。适用于构建本文所涵盖的人类化 BCMA CAR 的重链 CDR 的说明性实例
包括(但不限于)SEQ ID NO:4-6 中所阐述的 CDR 序列。

提及“V_H”或“VH”是指免疫球蛋白重链的可变区, 包括抗体、Fv、scFv、
dsFv、Fab 或如本文所公开的其它抗体片段的重链可变区。提及“V_L”或“VL”
是指免疫球蛋白轻链的可变区, 包括抗体、Fv、scFv、dsFv、Fab 或如本文
20 所公开的其它抗体片段的轻链可变区。

“单克隆抗体”是由 B 淋巴细胞的单个克隆或由其中已经转染单个抗体的
轻链和重链基因的细胞产生的抗体。单克隆抗体通过本领域的技术人员已
知的方法产生, 例如通过由骨髓瘤细胞与免疫脾细胞的融合体制备杂交抗体
形成细胞。单克隆抗体包括人类化单克隆抗体。

25 “Fv”是含有完全抗原结合位点的最小抗体片段。在一个实施例中, 双链
Fv 种类由一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域呈紧密非共价缔合的
二聚体组成。在单链 Fv(scFv)种类中, 一个重链可变结构域与一个轻链可变
结构域可以通过柔性肽连接子共价连接, 使得轻链和重链可以按类似于双链
Fv 种类的“二聚”结构缔合。在这一配置中, 每个可变结构域的三个高变区
30 (HVR)相互作用以定义 VH-VL 二聚体的表面上的抗原结合位点。六个 HVR
共同地赋予对抗体的抗原结合特异性。然而, 即使单个可变结构域(或包含

仅三个对抗原具有特异性的 HVR 的 Fv 的一半)也具有识别和结合抗原的能力,但亲和力低于完整结合位点。

Fab 片段含有重链可变结构域和轻链可变结构域并且还含有轻链的恒定结构域和重链的第一恒定结构域(CH1)。Fab'片段与 Fab 片段不同之处在于,重链 CH1 结构域的羧基末端增添了几个残基,包括一个或多个来自抗体铰链区的半胱氨酸。Fab'-SH 是本文关于 Fab'的名称,其中恒定结构域的半胱氨酸残基携有游离巯基。F(ab')₂ 抗体片段最初是作为其间具有铰链半胱氨酸的 Fab'片段对产生。还已知抗体片段的其它化学偶合。

如上所述,本发明涉及一种分离的靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体,其中,所述抗体既能结合人 BCMA 也能结合猴 BCMA。具体来说,在本发明中,利用流式细胞仪操作方法(FACS 方法)验证了本发明的抗体对表达人和猴 BCMA 细胞的亲和效果。本发明所得到的单克隆抗体对于人 BCMA-HEK293 细胞的亲和效果都优于阳性对照抗体(GSK2857916)。本发明所得到的单克隆抗体对于猴 BCMA-CHO 细胞的亲和效果都接近或优于阳性对照抗体(GSK2857916)。本发明所得到的单克隆抗体,能够同时高亲和地结合人和猴的 BCMA 抗原,和猴的 BCMA 抗原结合,便于抗体在进入临床研究前,以猴(食蟹猴)作为模型,很好地进行毒理评估和药代动力学评估。同时,本发明的单克隆抗体具有很高的亲和力,高亲和力的抗体在药效上更具优势,诸如抗体结合到靶标抗原分子上后解离下来更慢,使得抗体在细胞内吞效果等更好,而且达到同等细胞或动物药效作用情况下,所需的抗体剂量可能也更低。

在本文所用,术语“特异性结合”、“特异性识别”或“对……具有特异性”是指可测定的和可再现的相互作用,诸如靶标和抗原结合蛋白之间的结合。例如,特异性结合靶标(可以是表位)的抗原结合蛋白是与其他靶标的结合相比,与该靶标的结合具有更大的亲和力、亲合力、更容易和/或具有更长的持续时间的抗原结合蛋白。在一些实施方案中,如例如通过放射性免疫测定法(RIA)所测定,抗原结合蛋白与不相关靶标的结合程度比抗原结合蛋白与靶标的结合小约 10%。在一些实施方案中,特异性结合靶标的抗原结合蛋白具有的解离常数(K_d)≤1μM、≤100nM、≤10nM、≤1nM 或≤0.1nM。

具体来说,本发明的抗体包含重链可变区,所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 1(GHIFTNFHFH) 或 2(GYIFTNYHMH) 所示的重链互补决定区

1(CDR-H1), 和/或包含 SEQ ID NO: 3(GIYPGNGDTF)或 4(GIYPGNGDIF)所示的重链互补决定区 2(CDR-H2), 和/或包含 SEQ ID NO: 5(GSYGYIDAMDY)或 6(GSYGYIDAMDY)所示的重链互补决定区 3(CDR-H3)。

5 具体来说, 本发明的抗体可以包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7(RASQDISNYLN)或 8(RASQDISNDLN)所示的轻链互补决定区 1(CDR-L1), 和/或包含 SEQ ID NO: 9(YTSRLHS)或 10(YTSRLPS)所示的轻链互补决定区 2(CDR-L2), 和/或包含 SEQ ID NO: 11(QQGNTLPWT)或 12(QQGHTLPWT)所示的轻链互补决定区 3(CDR-L3)。

10 具体来说, 本发明的抗体可以包含重链可变区和轻链可变区, 其中, 所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 或 2 所示的重链互补决定区 1(CDR-H1), 和/或包含 SEQ ID NO: 3 或 4 所示的重链互补决定区 2(CDR-H2), 和/或包含 SEQ ID NO: 5 或 6 所示的重链互补决定区 3(CDR-H3); 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 或 8 所示的轻链互补决定区 1(CDR-L1), 和/或包含 SEQ ID NO: 9 或 10 所示的轻链互补决定区 2(CDR-L2), 和/或包含 SEQ ID NO: 11 或 12 所示的轻链互补决定区 3(CDR-L3)。

具体来说, 本发明的抗体包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 13:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLLIYY
20 TSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFGQG
TKLEIK

或

SEQ ID NO: 14:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNDLNWYQQKPGKAPKLLIYY
25 TSRLPSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQGHTLPWTFGQGT
KLEIK

所示的氨基酸序列、或上述序列的变体。

具体来说, 本发明的抗体包含重链可变区, 所述重链可变区具有 SEQ ID NO:15:

30 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKASGHFTNHFHWVRQAPGQGLEWIG
GIYPGNGDTFYNQKFQGRATITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRG

SYGYIDAMDYWGQGTSVTVSS

或

SEQ ID NO: 16:

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKASGHFTNHFHWVRQAPGQGLEWIG

5 GIYPGNGDTFYNQKFQGRATITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCVRG

SYGYIDAMDYWGQGTSVTVSS

所示的氨基酸序列、或上述序列的变体。

具体来说，本发明的抗体包含轻链可变区和重链可变区，其中，所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 13 或 14 所示的氨基酸序列、或上述序列的变体，
10 所述重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16 所示的氨基酸序列、或上述序列的变体。

具体来说，本发明的一种抗体的重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 所示的 CDR-H1，SEQ ID NO: 3 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 5 所示的 CDR-H3。
15 本发明的另一种抗体的重链可变区包含 SEQ ID NO: 2 所示的 CDR-H1，SEQ ID NO: 4 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 6 所示的 CDR-H3。

具体来说，本发明的一种抗体的轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 所示的 CDR-L1，SEQ ID NO: 9 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 11 所示的 CDR-L3。
20 本发明的另一种抗体的轻链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示的 CDR-L1，SEQ ID NO: 10 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 12 所示的 CDR-L3。

具体来说，本发明的抗体的轻链可变区具有 SEQ ID NO: 13 或 14 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。具体来说，本发明的抗体的重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、
25 96%、97%、98%、99%相似性的序列。

具体来说，本发明的一种抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中，重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 所示的 CDR-H1，SEQ ID NO: 3 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 5 所示的 CDR-H3；轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 所示的 CDR-L1，SEQ ID NO: 9 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 11 所示的 CDR-L3。
30 具体来说，所述抗体的轻链可变区具有 SEQ ID NO: 13 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%、99%相似性的序列；所述抗体的重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。

具体来说，本发明的另一种抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中，
5 重链可变区包含 SEQ ID NO: 2 所示的 CDR-H1，SEQ ID NO: 4 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 6 所示的 CDR-H3；轻链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示的 CDR-L1，SEQ ID NO:10 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 12 所示的 CDR-L3。具体来说，所述抗体的轻链可变区具有 SEQ ID NO: 14 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、
10 94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列；所述抗体的重链可变区具有 SEQ ID NO: 16 所示的序列，或具有与上述任一序列至少 80%，例如，85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。

如本文所用，术语“变体”是指已经修饰至少一个，例如 1、2 或 3 个氨基酸取代、缺失或添加的重链可变区或轻链可变区，其中包含重链或轻链变体的经修饰的抗原结合蛋白基本上保留修饰前抗原结合蛋白的生物学特征。
15 在一个实施方案中，含有变体重链可变区或轻链可变区序列的抗原结合蛋白保留修饰前抗原结合蛋白的 60%、70%、80%、90%、100%生物学特征。应当理解，可以单独或在与另一个重链可变区或轻链可变区组合修饰每个重链可变区或轻链可变区。本公开的抗原结合蛋白包含与本文描述的重链可变区氨基酸序列 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 同源的重链可变区氨基酸序列。本公开的抗原结合蛋白包括与本文描述的轻链可变区氨基酸序列 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99% 同源的轻链可变区氨基酸序列。同源性百分比可以在整个重链可变区
20 和/或整个轻链可变区上，或者百分比同源性可以限于框架区，而对应于 CDR 的序列与重链可变区和/或轻链可变区内本文中公开的 CDR 具有 100%同一性。如本文所用，术语“CDR 变体”是指已经修饰至少一个，例如 1、2 或 3 个氨基酸取代、缺失或添加的 CDR，其中包含 CDR 变体的经修饰的抗原结合蛋白基本上保留修饰前抗原结合蛋白的生物学特征。在一个实施方案中，
25 含有变体 CDR 的抗原结合蛋白保留修饰前抗原结合蛋白的 60%、70%、80%、90%、100%生物学特征。应当理解，可以修饰的每个 CDR 可以单独或与另

一个 CDR 组合修饰。在一个实施方案中，修饰是取代，特别是保守取代。

如上所述，本发明的抗体具有优异的内吞效果，均优于阳性对照抗体 (GSK2857916)。内吞作用 (endocytosis) 又称入胞作用或胞吞作用，是通过质膜的变形运动将细胞外物质转运入细胞内的过程。根据入胞物质的不同大小，以及入胞机制的不同可将内吞作用分为三种类型：吞噬作用、吞饮作用、受体介导的内吞作用。本发明所述抗体的内吞作用，指的是受体介导的内吞作用，通过靶向 BCMA 的单克隆抗体和 BCMA 结合后，介导 BCMA-抗体复合物形成内吞小体后和溶酶体融合，在溶酶体内 BCMA-抗体复合物被溶酶体介导降解，部分 BCMA 或 BCMA-抗体复合物也可转运回细胞膜上。当本发明所述的单克隆抗体偶联毒素小分子形成 ADC 药物后，通过内吞转运至胞内，释放的毒素分子能够杀死靶细胞 (如多发性骨髓瘤细胞)。因此，当本发明所述单克隆抗体开发为 ADC 药物，所述更好的内吞效果对于帮助介导药物进入靶细胞非常关键。

此外，本发明的抗体是经人源化改造的抗体，经本发明人源化改造前后的抗体与人和猴 BCMA 结合活性基本一致，且人源化改造前后的抗体阻断 BCMA 和 BAFF 结合的效果基本一致。本发明人源化改造前后抗体和猴 BCMA-CHO 细胞结合效果基本一致，且均优于阳性对照抗体 (GSK2857916)，且人源化改造前后抗体和 H929 细胞结合效果基本一致，且均优于阳性对照抗体 (GSK2857916)。且人源化前后抗体抗体在人骨髓瘤细胞系 H929 细胞上的内吞效果基本一致，且均优于阳性对照抗体 (GSK2857916)。

“人源化抗体”是指一类工程化抗体，其具有源自非人供体免疫球蛋白的其 CDR，该分子的剩余免疫球蛋白衍生部分源自一种(或多种)人免疫球蛋白。此外，框架支持残基可以改变以保留结合亲和力(参见例如 Queen 等, Proc. Natl Acad Sci USA, 86:10029-10032(1989), Hodgson 等, Bio/Technology, 9:421(1991))。合适的人受体抗体可以通过与供体抗体的核苷酸和氨基酸序列的同源性从常规数据库，例如数据库、Los Alamos 数据库和 Swiss 蛋白质数据库选择的抗体。以与供体抗体的框架区的同源性(基于氨基酸)表征的人抗体可以适合于提供用于插入供体 CDR 的重链恒定区和/或重链可变框架区。可以以类似的方式选择能够提供轻链恒定或可变框架区的合适受体抗体。应当注意的是，受体抗体重链和轻链不需要来源于相同的受体抗体。

本发明经人源化改造后的抗体的热稳定性略优于阳性对照抗体(GSK2857916),且达到抗体成药的热稳定性条件,热稳定性差可能导致抗体成药性问题,如抗体低表达和抗体聚集。

另外,本发明还涉及一种靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体,该抗体与上述本发明所述的抗体识别相同的抗原决定部位。本发明还涉及一种靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体,该抗体与上述本发明所述的抗体竞争性结合 B 细胞成熟抗原(BCMA)。

具体来说,本发明还涉及编码上述本发明的抗体的核酸。本发明还涉及一种表达载体,其包含上述本发明所述的核酸。本发明还涉及一种宿主细胞,其包含上述本发明所述的表达载体或基因组中整合有本发明所述的核酸。

如本领域已知,在本文中可交换使用的“多核苷酸”或“核酸”是指任何长度的核苷酸链,并且包括 DNA 和 RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修饰的核苷酸或碱基、和/或它们的类似物、或者能够通过 DNA 或 RNA 聚合酶掺入链的任何底物。如本文所用,“载体(vector)”表示构建体,其能够将一种或多种所关注的基因或序列递送入宿主细胞并且优选在宿主细胞中表达所述基因或序列。载体的实例包括但不限于病毒载体、裸 DNA 或 RNA 表达载体、质粒、粘粒或噬菌体载体、与阳离子凝聚剂相关的 DNA 或 RNA 表达载体、包囊化于脂质体中的 DNA 或 RNA 表达载体以及某些真核细胞,例如生产细胞。在本发明中术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用,并且是指已经引入外源性核酸的细胞,包括这些细胞的子代。宿主细胞包括“转化子”和“转化的细胞”,其包括原代转化细胞以及由此来源的子代,而不考虑传代次数。子代在核酸含量上与亲代细胞可能不完全相同,但可能含有突变。本文包括与在初始转化的细胞中筛选或选择的细胞具有相同功能或生物学活性的突变子代。

本发明还涉及一种生产单克隆抗体的方法,所述方法包括培养本发明所述的宿主细胞从而生产上述本发明所述的单克隆抗体。

本发明还涉及一种药物组合物,其包含本发明所述的单克隆抗体和药学上可接受的载体。本发明还涉及一种药盒或制品,其包括本发明所述的单克隆抗体或本发明所述的药物组合物。如本文所用,“药学可接受的载体”或“药学可接受的赋形剂”包括任何这样的材料,当与活性成分组合时,其允许所述成分保持生物活性,并且不与对象的免疫系统反应。实例包括但不限于任

何标准药学载体，例如磷酸缓冲盐溶液、水、乳剂(如油/水乳剂)以及各种类型的湿润剂。用于气溶胶或肠胃外施用的优选稀释剂为磷酸缓冲盐水(PBS)或生理盐水(0.9%)。通过公知的常规方法配制包含这类载体的组合物(参见，例如，Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; 和 Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005)。

本发明还涉及一种治疗与 BCMA 的表达相关的疾病的方法，其包括：向有此需要的受试者给药本发明所述的单克隆抗体或本发明所述的药物组合物或本发明所述的药盒或制品。具体来说，上述疾病选自 B 细胞急性淋巴性白血病、T 细胞急性淋巴性白血病、急性淋巴性白血病、慢性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、B 细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病，小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、恶性淋巴增殖状况、MALT 淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨髓瘤、MGUS、浆细胞瘤、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性和 POEMS 综合征。具体来说，上述疾病为多发性骨髓瘤。

具体来说，术语“多发性骨髓瘤(MM)”，也称为浆细胞骨髓瘤或 Kahler 氏病(Otto Kahler 之后)，是一种以与基质细胞密切接触的恶性浆 B 细胞在骨髓内的积累为特征的难治性克隆 B 细胞肿瘤。MM 是一种渐进性疾病，特别是例如由对前体浆 B 细胞的多种遗传损伤引起的，即主要由易位，例如 t(11;14)、t(4;14)、t(8;14)导致的染色体易位，或删除，例如 del(13)和 del(17)，使得肿瘤细胞大幅增殖并成为凋亡耐受。B 淋巴细胞起始于骨髓中并移动到淋巴结。由于它们的发育，B 淋巴细胞在其细胞表面上成熟并展示不同的蛋白。当它们被活化而分泌抗体时，将它们称作浆细胞。在它们离开称为生发中心的部分淋巴结后，多发性骨髓瘤在 B 细胞中发展。免疫系统在严格控制下保持 B 细胞的增殖和抗体的分泌。当染色体和基受损时(通常通过重排)，失去了这种控制。通常情况下，启动子基因移动(或易位)到染色体，它刺激抗体基因过量产生。

如上所述，在多发性骨髓瘤患者中经常观察到免疫球蛋白重链基因(在

染色体 14, 基因座 14q32 上)和癌基因(经常 11q13、4p16.3、6p21、16q23 和 20q11[10])之间的染色体易位。该突变导致所述癌基因的失调, 这被认为是骨髓瘤发病机制中的一个重要的起始事件。该结果是浆细胞克隆的增殖和基因组不稳定性, 导致进一步的突变和易位。在约 50%的所有骨髓瘤病例中观察到了 14 号染色体异常。在约 50%的病例中也观察到了 13 号染色体(一部分)的缺失。

在本文中, “受试者”、“个体”或“对象”是哺乳动物, 更优选是人。哺乳动物还包括但不限于农场动物、竞赛动物、宠物、灵长类、马、犬、猫、小鼠和大鼠。在本发明中, 向有此需要的受试者给药本发明所述的单克隆抗体或本发明所述的药物组合物或本发明所述的药盒或制品是指给予有效量的药物组合物或药剂或制品等, 如本发明所用, 术语“有效量”表示引发例如研究者或临床医师所追求的组织、系统、动物或人的生物学或药学响应的药物或药剂的量。此外, 术语“治疗有效量”表示, 与没有接受该量的相应受试者相比, 引起疾病、病症或副作用的改进治疗、治愈、预防或减轻的量, 或者使疾病或病况的进展速率降低的量。该术语在其范围内还包括有效增强正常生理功能的量。

本发明还涉及本发明的单克隆抗体在制备用于治疗与 BCMA 的表达相关的疾病的药物中的用途。具体来说, 上述疾病选自 B 细胞急性淋巴性白血病、T 细胞急性淋巴性白血病、急性淋巴性白血病、慢性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、B 细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病, 小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、恶性淋巴增殖状况、MALT 淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨髓瘤、MGUS、浆细胞瘤、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性和 POEMS 综合征。具体来说, 上述疾病为多发性骨髓瘤。如本文所用, 术语“癌症”、“新生物”和“肿瘤”可互换使用, 并且为单一或复数形式, 是指已经经过恶性转化或导致异常或不受调节的生长或过度增殖的细胞变化的细胞。此种变化或恶性转化通常会使得此类细胞对宿主生物体有致病性, 因此也意图包括变为或可以变成致病性且需要干预或可以受益于干预的初癌或癌前细胞。原发性癌细胞(即, 从恶性转化部位附近

取得的细胞)可以通过完善建立的技术,特别是组织学检查而非癌细胞区分。如本发明所用,癌细胞的定义不仅包括原发性癌细胞,也包括衍生自癌细胞祖先(ancestor)的任何细胞。这包括转移的癌细胞、和体外培养物和衍生自癌细胞的细胞系。当提及通常表现为实体瘤的癌症类型时,“临床上可检测”的肿瘤为在肿瘤块的基础上可检测的那些;例如通过如 CAT 扫描、MR 成像、X-射线、超声或触诊的操作,和/或由于从患者可获得的样品中一种或多种癌症特异性抗原的表达而可检测的肿瘤。换言之,本发明的术语包括细胞、新生物、癌症和任何阶段的肿瘤,包括临床医生称为初癌、肿瘤、原位生长、以及晚期转移性生长的。肿瘤可以为造血肿瘤,例如血细胞肿瘤等,即为液体肿瘤。基于此类肿瘤的临床病况的具体实例包括白血病如慢性髓细胞性白血病或急性髓细胞性白血病;骨髓瘤如多发性骨髓瘤;淋巴瘤等。

如上所述,相比于 Belantamab mafodotin 抗体(简称为 GSK2857916),本发明涉及的抗体既能结合人 BCMA 也能结合猴 BCMA,在亲和水平方面,与之接近甚至更好。本发明涉及的抗体在阻断 BCMA 结合其配体 BAFF 或 APRIL 效果方面,与 GSK2857916 接近甚至更好,阻断 BCMA 和 BAFF 及 APRIL 结合,能够抑制受配体的结合导致的胞内信号通路活化(如 NF κ B 信号通路),从而抑制浆细胞的生存。本发明涉及的抗体在内吞效果方面,具有比 GSK2857916 更好的内吞效果,内吞效果是抗体药物偶联物(ADC)介导细胞杀伤的关键功能,具有更好的内吞效果的抗体对应 ADC 药物杀伤效果更优优势。本发明涉及的抗体在热稳定性方面,具有比 GSK2857916 更好的热稳定性,热稳定是抗体成药性的关键指标,具有更好的热稳定抗体,在抗体表达上可能更具优势,且产生聚体的可能性降低。本发明涉及的抗体,在免疫原性方面,为人源化后的抗体,具有更低的免疫原性风险,免疫原性会激起人体内的免疫反应,一方面产生抗抗体,降低抗体药的效果,另一方面强的免疫原性可能会带来药物更大的副作用风险。而人源化的抗体,将抗体 CDR 区以外的序列进行突变改造,使之更接近于人的抗体序列,从而降低抗体产生强免疫原性的风险。

30 实施例

实施例 1

原材料的制备

在本实施例中，BCMA 抗原及其配体均购自 ACRO Biosystems，同时，根据美国专利申请(US20140105915A)制备了葛兰素史克(GSK)的阳性抗体 GSK2857916，值得注意的是，制备的该阳性抗体并没有偶连毒素分子但并不影响其他可能的功能。

1.1 抗原的准备

本申请中抗原共用到如下 4 种：human-BCMA-Fc、human-BCMA-His、cyno-BCMA-Fc 和 cyno-BCMA-His，均购买于 ACRO Biosystems，货号分别为 BC7-H5254、BCA-H522y、BCA-C5253、BCA-C52H7。另外，其活性已与 GSK2857916 进行相互验证，并与美国专利申请 US20140105915A 上披露的相符，结果显示在图 2(A)中。

1.2 配体的准备

本申请中使用的配体共用到如下 2 种，human-BAFF-Fc 和 human-APRIL-Fc，均购买于 ACRO Biosystems，货号分别为 BAF-H4268、APL-H5267。另外，其活性已与 human-BCMA 进行受配体结合验证，并与美国专利申请 US20140105915A 上披露的相符，结果显示在图 2(B)和 2(C)中。

1.3 阳性对照抗体的制备

本申请中，阳性对照抗体 GSK2857916 采用瞬转系统(ExpiCHO)进行表达，其中，用到的主要材料包括：Gibco 培养基(货号：A29100-01)，Gibco 转染试剂盒(货号：A29129)。首先，根据美国专利申请 US20140105915A 披露的序列合成 GSK2857916 的轻链序列(如序列号 SEQ ID NO:17 的序列所示)和重链序列(如序列号 SEQ ID NO.:18 的序列所示)，通过分子克隆方法构建出包含完整 GSK2857916 抗体轻链和重链基因的质粒。将含有 GSK2857916 抗体轻链的质粒和重链的质粒按照 2 : 1 的质量比进行混合，在 25 mL 表达体系内，按照标准流程将上述质粒混合物(25 μ g)与转染试剂进行混合并滴加入 25 mL 的 ExpiCHO 细胞表达体系中。充分混匀后，于 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱内表达 18-22 小时。随后，向上述转染混合物中添加补料培养基并置于 32 $^{\circ}$ C 细胞培养箱内继续培养。转染后第 5 天，添加第二次补料，并将细胞置于 32 $^{\circ}$ C 细胞培养箱内继续培养 10-12 天。接着，将表达好的细胞混悬液进行高速离心并取上清，所得上清经 0.22 μ m 滤膜过滤后，采用 Protein A/G 亲和层

析柱亲和法进行纯化。纯化后，用 100 mM 甘氨酸盐(pH3.0)洗脱目的蛋白，浓缩，置换，分装，经 SDS-PAGE 鉴定和活性鉴定合格后入库冻存。

实施例 2

5 细胞株的制备

在本实施例中，购买了表达 BCMA 的人骨髓瘤细胞系 H929 细胞，构建了过表达人 BCMA 的细胞株 BCMA-HEK293 细胞和过表达猴 BCMA 的细胞株 BCMA-CHO 细胞。

2.1 H929 细胞株的准备

10 本申请中，H929 购于北京协和细胞库，货号为 3111C0001CCC000360，为天然高表达人 BCMA 的骨髓瘤细胞株。

2.2 BCMA-CHO 细胞株的制备

2.2.1 表达猴 BCMA 全长的质粒的构建

15 通过基因合成技术合成含有食蟹猴的 BCMA 蛋白的 DNA 片段，并将其克隆至表达载体。通过化转的方法导入大肠杆菌，挑取大肠杆菌单克隆后测序得到正确的质粒克隆，进行质粒抽提并再次测序确认。

2.2.2 电转

20 使用 Gibco 的 CD-CHO 无血清培养基(货号: 10743029)培养 CHO-s 细胞。电转前一天，将细胞传代至 5×10^6 /mL，次日使用 Invitrogen 的电转试剂盒(货号: MPK10096)和电转仪(货号: MP922947)将构建好的质粒导入 CHO-s 细胞中。将电转后的细胞移至 CD-CHO 培养基中，放置于 37°C 细胞培养箱中培养 48 h。

2.2.3 电转后细胞铺板

25 将电转后的 CHO-s 细胞按 2000 个细胞/孔铺到 96 孔板中，加入终浓度 30 μ M MSX(Millipore, GSS-1015-F)和 GS supplement(Sigma, 58672C-100ml)，放置于 37°C 二氧化碳培养箱中培养，10 天后补充加入含 30 μ M MSX 和 1 \times GS supplement 的培养基。

2.2.4 克隆挑选、细胞扩培和 FACS 鉴定

30 挑取 96 孔板中长出的单细胞克隆，转移至 24 孔培养板中继续扩大培养，之后通过 FACS 鉴定猴 BCMA 稳转成功的细胞株。

2.3 BCMA-HEK293 细胞株的制备

2.3.1 表达人 BCMA 全长的质粒的构建

通过基因合成技术合成含有人的 BCMA 蛋白的 DNA 片段,并将其克隆至表达载体。通过化转的方法导入大肠杆菌,挑取大肠杆菌单克隆后测序得到正确的质粒克隆,进行质粒抽提并再次测序确认。

5 2.3.2 电转

使用 Gibco 的 DMEM 无血清培养基(货号: 12634010)培养 HEK293 细胞。电转前一天,将细胞传代至 2×10^5 /mL,次日使用 Invitrogen 的电转试剂盒(货号: MPK10096)和电转仪(货号: MP922947)将构建好的质粒导入 HEK293 细胞中。将电转后的细胞移至 DMEM 培养基中,放置于 37°C 细胞培养箱中培养 48 h。

10 2.3.3 电转后细胞铺板

将电转后的 HEK293 细胞按 1000 个细胞/孔铺到 96 孔板中,加入终浓度 2 μ g/mL 的 puromycin,放置于 37°C 二氧化碳培养箱中培养,14 天后补充加入 2 μ g/mL 的 puromycin 的培养基。

15 2.3.4 克隆挑选、细胞扩培和 FACS 鉴定

挑取 96 孔板中长出的单细胞克隆,转移至 24 孔培养板中继续扩大培养,之后通过 FACS 鉴定人 BCMA 稳转成功的细胞株。

20 实施例 3

20 动物免疫

在本实施例中,动物免疫包括数种方案且同时进行,在免疫过程中,取小鼠血清进行效价检测并评估免疫的效果,最终根据血清效价决定建库的小鼠编号。

25 3.1 动物免疫

25 3.1.1.免疫方案一

通过皮下注射和腹腔注射的方式免疫 Balb/c 小鼠(上海灵畅生物科技有限公司,雌性,6-8 周,n=2),材料包括上述提到的人 BCMA-Fc 和猴 BCMA-Fc 抗原蛋白(ACRO Biosystems),采用交叉免疫的方式。首次免疫剂量为 100 μ g/只,并辅以 CFA(完全弗氏佐剂),之后免疫剂量降至 50 μ g/只,并辅以 IFA(弗式不完全佐剂),均为两周一交叉免疫。对应小鼠编号为 Mouse 1 和 Mouse 2。

30 3.1.2 免疫方案二

通过皮下注射和腹腔注射的方式免疫 Babl/c 小鼠(小鼠与方案一为同一批次, n=2), 材料包括上述提到的人 BCMA-Fc、猴 BCMA-Fc 抗原蛋白(ACRO Biosystems)、高表达人 BCMA 的 HEK293 细胞和高表达猴 BCMA 的 CHO 细胞, 采用交叉免疫的方式。蛋白免疫剂量为 20 μg/只, 细胞免疫剂量为 1×10⁷/只, 腹腔注射, 为一周一交叉免疫。对应小鼠编号为 Mouse 3 和 Mouse 4。

3.2 血清效价 ELISA 检测

3.2.1 抗原包被和封闭

在 ELISA 板上, 提前一天分别包被人 BCMA 和猴 BCMA, 包被浓度为 2 μg/mL, 30 μL/孔, 4℃过夜。在免疫效价测定当日, 用 PBST 洗板三次, 并用 5%的脱脂牛奶室温封闭两小时, 再用 PBST 洗板三次。

3.2.2 一抗和二抗

各个血清样本在原液的基础上先稀释 500 倍, 再按 3 倍梯度进行稀释后, 作为一抗加到 ELISA 板中, 室温下孵育 1 h, PBST 洗板三次后, 加入二抗 (Goat-anti-mouse-IgG-Fab-HRP, Sigma, M4115), 室温下孵育 1 h。

3.2.3 显色、终止和读板

孵育完成后, PBST 洗板六次, 加 TMB(SurModics, TMBS-1000-01)显色, 根据显色结果, 加入 2 M HCl 终止反应, 通过酶标仪(Molecular Devices, SpecterMax 190)在 OD450 下读板。血清效价结果表明, 免疫后的小鼠对人 BCMA 和猴 BCMA 的效价均很高, 可用于下一步的抗体库构建, 其结果显示在下表 1-1 和 1-2 中。

表 1-1 用人 BCMA 检测小鼠血清的效价

血清与人BCMA的效价检测							
小鼠编号/ 稀释比例	方案一第4轮免疫后效价		方案二第5轮免疫后效价		NC sera-buffer	阳性对照抗体 GSK2857916	稀释浓度 ug/ml
	Mouse 1	Mouse 2	Mouse 3	Mouse 4			
500	2.87	3.02	2.85	2.88	0.18	2.96	10.000
1500	2.88	2.86	2.74	2.17	0.10	2.96	3.333
4500	2.85	2.72	2.33	1.15	0.07	3.03	1.111
13500	2.56	2.01	1.22	0.55	0.05	3.00	0.370
40500	1.63	1.11	0.59	0.22	0.05	2.78	0.123
121500	0.83	0.53	0.22	0.10	0.05	2.13	0.041
364500	0.34	0.20	0.13	0.07	0.05	0.83	0.014
1093500	0.20	0.14	0.13	0.08	0.05	0.25	0.005

表 1-2 用猴 BCMA 检测小鼠血清的效价

血清与猴BCMA的效价检测							
小鼠编号/ 稀释比例	方案一第4轮免疫后效价		方案二第4轮免疫后效价		NC sera:buffer	阳性对照抗体 GSK2857916	稀释浓度 ug/ml
	Mouse 1	Mouse 2	Mouse 3	Mouse 4			
500	2.95	3.03	2.90	2.99	0.06	2.78	10.000
1500	2.91	3.01	2.66	2.52	0.05	2.73	3.333
4500	2.78	2.93	1.63	1.41	0.05	2.81	1.111
13500	2.53	2.20	0.72	0.57	0.05	2.83	0.379
40500	1.45	1.00	0.25	0.22	0.06	2.87	0.123
121500	0.66	0.43	0.12	0.11	0.05	2.53	0.041
364500	0.27	0.19	0.07	0.07	0.05	1.93	0.014
1093500	0.14	0.10	0.06	0.06	0.05	0.94	0.005

实施例 4

在本实施例中，优选了实施例 3 中效价最优的小鼠，采用噬菌体展示技术，将小鼠脾脏中 B 细胞的抗体基因克隆至噬菌体展示载体，构建成抗体文库。以人 BCMA 和猴 BCMA 为筛选抗原，通过文库海选、单克隆初筛和测序等过程，最终获得 17 个针对人和猴的 BCMA 抗原具有结合活性的抗体分子。

4.1 噬菌体展示抗体基因文库构建

在免疫结束后，按安乐死标准流程处理小鼠。取小鼠脾脏，经研磨和过滤后，收集脾细胞，加入 1 mL 的 TRIzol™ Reagent (Thermo Fisher, 15596026) 裂解脾细胞，通过酚氯仿法提取总 RNA，通过反转录试剂盒 (TaKaRa, 6210A) 将提取的 RNA 反转录成 cDNA。之后，以 cDNA 为 PCR 模板，采用鼠源抗体序列扩增的特异性引物，分别扩增抗体的轻链和重链基因。最后，通过 NcoI+NotI 双酶切和 T4 连接酶连接，将抗体基因片段插入至噬菌体展示用载体上，连接产物通过 DNA 回收试剂盒 (Omega, D6492-02) 回收，最后通过电转仪 (Bio-Rad, MicroPulser) 转化至感受态大肠杆菌 SS320 中 (Lucigen, MC1061 F)，并涂布于含有氨苄青霉素和四环素的 2-YT(C+/K+ 2-YT) 固体平板，扩增正确转化的抗体质粒的 SS320 菌，最终构建成含 Fab 段抗体序列的文库。

4.2 噬菌体展示抗体基因文库筛选

4.2.1 磁珠法筛选噬菌体展示抗体基因文库

磁珠法筛选是基于将 Biotin 标记的抗原蛋白和偶联有 Avidin 的磁珠结合，通过将结合抗原的磁珠和文库进行孵育、洗涤和洗脱的海选过程，经历 2-4 轮的海选，最终将针对抗原的特异性单克隆抗体富集下来的过程。本实施例中利用 Biotin 标记的人 BCMA 抗原和猴 BCMA 抗原交叉海选的原则，

其中第一和第三轮采用人 BCMA 海选，第二轮采用猴 BCMA 海选，一共海选 3 轮，然后将富集的抗体序列混合物，进行人和猴 BCMA 的单克隆初筛。

具体实施方法如下：

首先用 Biotin 标记的人 BCMA 蛋白与 Avidin 偶联的磁珠孵育，使得人 BCMA 蛋白结合到磁珠上。将结合有 BCMA 抗原的磁珠和构建的噬菌体库室温下孵育 2 h。经 PBST 洗涤 6-8 次后，去除非特异性吸附的噬菌体，加入 Trypsin(Gibco, 25200072)轻轻混匀并反应 20 min，以洗脱特异性结合的抗体展示噬菌体。随后，用洗脱下来的噬菌体侵染对数期的 SS320 菌体(Lucigen, MC1061 F)并静置 30 min，然后在 220 rpm 条件下培养 1 h，再通过加入 VSCM13 辅助噬菌体并静置 30 min，继续在 220 rpm 条件下培养 1 h，离心并置换至 C+/K+ 2-YT 培养基中，最终得到的噬菌体继续用于下一轮的海选。

4.4.2 免疫管法筛选噬菌体展示抗体基因文库

免疫管筛选的原理是将 BCMA 蛋白包被在具有高吸附力的免疫管表面，通过将噬菌体展示抗体文库加入免疫管中并和吸附于免疫管表面的抗原蛋白进行孵育、洗涤和洗脱的海选过程，经历 2-4 轮海选，最终将针对抗原的特异性单克隆抗体富集下来的过程。免疫管法和磁珠法的目的均为富集针对抗原的特异性抗体，为两个互补的实验方法。本实施例中以人 BCMA 抗原和猴 BCMA 抗原交叉海选的原则，其中第一和第三轮采用人 BCMA 海选，第二轮采用猴 BCMA 海选，一共海选 3 轮，然后将富集的抗体序列混合物，进行人和猴 BCMA 的单克隆初筛。具体实施方法与磁珠法筛选类同。

4.5 单克隆的挑选

在三轮筛选后，从第三轮的 Pool 中挑选部分单克隆进行 ELISA 检测，包括与人 BCMA 和猴 BCMA 的结合。最终，在 1344 个克隆中共挑到 93 个能够与人和猴 BCMA 都结合的阳性克隆，经测序分析及与人和猴 BCMA 亲和力排序结果分析后，最终选取了 17 个克隆的序列构建全长以进行下一步的实验。

实施例 5

全长抗体构建、表达与纯化

在本实施例中，将实施例 4 中获得的 17 个人猴交叉的 Fab 抗体构建为人 IgG1 型，其中轻链均为 Kappa，抗体类型为人鼠嵌合抗体。

5.1 质粒的构建

将筛选获得的序列的重链序列与人 IgG1 Fc 段融合构建，轻链与人的 Kappa 恒定区融合构建，将重链和轻链的质粒转化 ExpiCHO 细胞，诱导表达并得到全长抗体。

5.2 抗体的表达纯化

本申请中，抗体采用的是 ExpiCHO 瞬转表达系统，培养基为(Gibco, A29100-01)，转染试剂盒为(Gibco, A29129)。具体方法如下：转染前一天将 ExpiCHO 细胞进行传代，在 25 mL 体系内，将构建好的质粒 25 μ g 与转染试剂混合之后滴加入 25 mL ExpiCHO 细胞中，充分混匀后，于 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱内表达 18-22 h。随后，向上述转染混合物中添加补料培养基并置于 32 $^{\circ}$ C 细胞培养箱内继续培养。转染后第 5 天，添加第二次补料，并将细胞置于 32 $^{\circ}$ C 细胞培养箱内继续培养 10-12 天。接着，将表达好的细胞混悬液进行高速离心并取上清，所得上清经 0.22 μ m 滤膜过滤后，采用 Protein A/G 亲和层析柱亲和法进行纯化。纯化后，用 100 mM 甘氨酸盐(pH3.0)洗脱目的蛋白，浓缩，置换，分装，经 SDS-PAGE 鉴定、SEC 纯度检测、活性鉴定后入库冻存。

实施例 6

候选抗体 ELISA 水平亲和阻断效果检测

在本实施例中，基于 ELISA 的方法验证了候选抗体对人和猴 BCMA 的亲和效果，基于 ELISA 的方法验证了候选抗体阻断 BCMA 和 BAFF 或 APRIL 结合的效果。

6.1 基于 ELISA 检测候选抗体对人和猴 BCMA 的亲和效果

在 96 孔 ELISA 板上，分别包被人和猴 BCMA，2 μ g/mL，30 μ L/孔，4 度过夜。次日，将孔板用 PBST 洗 3 次后用 5%脱脂牛奶封闭 2 h，用 PBST 洗板 3 次后，加入梯度稀释的候选抗体及阳性对照抗体(GSK2857916)并孵育 1 h。之后，用 PBST 清洗 3 次后加入二抗(anti-human-IgG-Kappa-HRP, abcam, ab79115)并孵育 1 h。孵育完成后，PBST 洗板六次，加 TMB(SurModics, TMBS-1000-01)显色。根据显色结果，加入 2M HCl 终止反应，通过酶标仪(Molecular Devices, SpecterMax 190)在 OD450 下读板，结果显示在图 4(A)至图 4(B)中，结果表明，候选抗体拥有接近甚至优于 GSK2857916 抗体的亲和人和 BCMA 和猴 BCMA 的效果。

6.2 基于 ELISA 检测候选抗体阻断 BCMA 和 BAFF 的结合

在本实施例中，阻断体系包含前期开发的过程，根据开发结果，确定实际使用的兼具灵敏度及稳定性的阻断体系参数。

对于 BAFF 的阻断，包板人 BAFF 蛋白，1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，30 $\mu\text{L}/\text{孔}$ ，4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。
5 次日，将孔板用 PBST 洗 3 次后用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h。然后分别将候选抗体或阳性对照抗体(GSK2857916)梯度稀释，并与 Biotin 标记的人 BCMA(0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$)提前预混 0.5 h，在封闭完成并洗板结束后加至 96 孔 ELISA 板中，孵育 1 h。之后，用 PBST 清洗 3 次后加入二抗(NeutrAvidin-HRP, ThermoFisher, 31001)并孵育 1 h。孵育完成后，PBST 洗板六次，加 TMB(SurModics, 10 TMBS-1000-01)显色，根据显色结果，加入 2M HCl 终止反应，通过酶标仪(Molecular Devices, SpecterMax 190)在 OD450 下读板，结果显示在图 5(A)中，结果表明，候选抗体拥有接近甚至优于 GSK2857916 抗体的阻断人 BCMA 和 BAFF 结合的效果。

6.3 基于 ELISA 检测候选抗体阻断 BCMA 和 APRIL 的结合

15 在本实施例中，阻断体系包含前期开发的过程，根据开发结果，确定实际使用的兼具灵敏度及稳定性的阻断体系参数。

对于 APRIL 的阻断，包板人 APRIL 蛋白，2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，30 $\mu\text{L}/\text{孔}$ ，4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。次日，将孔板用 PBST 洗 3 次后用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h。然后分别将候选抗体或阳性对照抗体(GSK2857916)梯度稀释，并与 Biotin 标记的人
20 BCMA(0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$)提前预混半小时，在封闭完成并洗板结束后加至 96 孔平底板中，孵育 1 h。之后，用 PBST 清洗 3 次后加入二抗 NeutrAvidin-HRP(ThermoFisher, 31001)并孵育 1 h。孵育完成后，PBST 洗板六次，加 TMB(SurModics, TMBS-1000-01)显色，根据显色结果，加入 2M HCl 终止反应，通过酶标仪(Molecular Devices, SpecterMax 190)在 OD450 下读板，
25 结果显示在图 5(B)中，结果表明，候选抗体拥有接近甚至优于 GSK2857916 抗体的阻断人 BCMA 和 APRIL 的结合的效果。

实施例 7

候选抗体 FACS 水平与人和猴 BCMA 表达细胞株亲和效果检测

30 在本实施例中，基于 FACS 方法验证候选抗体对表达人和猴 BCMA 细胞的亲和效果。

7.1 基于 FACS 检测候选抗体对人 BCMA-HEK293 细胞的亲和效果

收集指数生长期的 BCMA-HEK293 细胞，300 g 离心去上清，将细胞用配制好的 FACS 缓冲液重悬，计数并将细胞悬液密度调整为 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 。随后，将 BCMA-HEK293 细胞以每孔 100 μL 加入 96 孔圆底板中，300 g 离心去上清。向对应孔中加入梯度稀释的候选抗体和阳性对照抗体稀释液，用排枪将细胞吹匀并放置于 4°C 下孵育 30 min。将孵育后的细胞混合液 300 g 离心去上清，向对应孔中加入 200 μL 的 FACS 缓冲液并使用排枪重悬细胞；重复两次，300 g 离心去上清；加入 PE 标记的 anti-human-IgG-Fc 流式抗体 (Abcam, 98596)，用排枪将细胞吹匀并放置于 4°C 下孵育 30 min，300 g 离心去上清。随后，加入 FACS 缓冲液并重悬细胞，重复两次后向孔中加入 FACS 缓冲液，每孔 200 μL ，重悬细胞。最后，通过流式细胞仪 (Beckman, CytoFLEX AOO-1-1102) 上机检测。本实施例中，结果显示在图 3(A) 中，结果表明，抗体 SY14-3rd-5-6-7 对于人 BCMA-HEK293 细胞的亲和效果优于阳性对照抗体 (GSK2857916)。

7.2 基于 FACS 检测候选抗体对猴 BCMA-CHO 细胞的亲和效果

本实施例中，操作流程与 7.1 完全一致，与之不同的是，细胞为猴 BCMA-CHO 细胞，其结果显示在图 3(B) 中，结果表明，抗体 SY14-3rd-5-6-7 对于猴 BCMA-CHO 细胞的亲和效果优于阳性对照抗体 (GSK2857916)。另外，人、猴间的信号差异猜测可能是 BCMA-HEK293 或 BCMA-CHO 上 BCMA 表达量差异造成的。

实施例 8

候选抗体内吞效应检测

在本实施例中，开发了检测抗体在人骨髓瘤细胞系 H929 细胞上内吞的方法体系并对候选抗体内吞效应进行了相应检测，基本原理为通过细胞毒性来检测抗体的内吞效应。Fab-ZAP (Atsbio, IT-51-100) 是一种连接了 saporin (皂素) 的 Fab 片段，saporin 是一种核糖体抑制剂，能够抑制蛋白质的合成而使细胞死亡。本实施例中，Fab-ZAP 是一种能够和来源抗体 Fc 结合的 Fab 片段，Fab-ZAP 和抗 BCMA 的抗体共孵育后使抗体带上毒素，当抗 BCMA 的抗体被 H929 细胞内吞后，毒素随着抗体进入到细胞内并使细胞死亡，因此，可以通过 MTS 试剂盒 (Promega, G3580) 检测细胞的活性来检测抗体的内吞

效应。

具体检测方法如下：H929 细胞提前一周复苏，复苏后每 3 天传代一次，每次细胞接种密度为 2×10^5 /mL，细胞传代不超过 3 周。吸取处于对数生长期的细胞，充分混匀细胞后，计数并测定其活率。取 1 个 96 孔平底板，将细胞密度调整为 4×10^5 /mL，每孔中加入 50 μ L 细胞，轻轻拍打混匀，将细胞培养板放入 37°C 细胞培养箱中孵育 16 小时。然后用 1640+10% FBS+1% PS+50 μ M β -巯基乙醇完全培养基将 Fab-ZAP 先配制成 27 nM(2.16 μ g/ml)的稀溶液，加至梯度稀释的抗体内使得孵育的 Fab-ZAP 终浓度为 13.5 nM(1.08 μ g/ml)。按设计好的布板，用 300 μ L 排枪从稀释板中取 50 μ L 稀溶液加入到细胞板中，轻轻拍打混匀，放入细胞培养箱培养 3 天。之后，提前将 MTS 置于室温融化，将细胞板从培养箱中取出，用 100 μ L 的 12 道移液枪取 20 μ L 的 MTS 加入到各孔中，轻轻拍打后置于培养箱孵育 2 h，最后，将细胞板放入酶标仪中，在 492 nm 波长下，读数并保存。

本实施例中，结果显示在图 6(A)和 6(B)中，结果表明，候选抗体 SY14-3rd-5-6-7 和 SY14-3rd-5-6-32 的内吞效果均优于阳性对照抗体 (GSK2857916)。

至此，候选抗体所有的检测结果汇总在图 7 中。

实施例 9

抗体人源化改造

在本实施例中，对鼠源抗体重链和轻链 V 区的框架进行了氨基酸的点突变，使之更接近人的 Germline。其中，改造的候选抗体包括 SY14-3rd-5-6-7(又称 5-6-7 或 5-6-7-WT)和 SY14-3rd-5-6-32(又称 5-6-32 或 5-6-32-WT)，其中改造后的优选候选抗体分别称为 5-6-7-hu-2 和 5-6-32-hu-2。

实施例 10

人源化抗体功能验证

10.1 基于 ELISA 检测两个候选抗体在人源化改造前后对人和猴 BCMA 的亲和效果

具体操作方法参见实施例 6，结果显示在图 8(A)、图 8(B)、图 9(A)和图 9(B)中，结果表明，人源化改造前后的抗体与人和猴 BCMA 结合活性基本一

致。

10.2 基于 ELISA 检测两个候选抗体在人源化改造前后阻断 BCMA 和 BAFF 的效果

5 具体操作参见实施例 6, 结果显示在图 10(A)和 11(A)中, 结果表明, 人源化改造后的抗体阻断 BCMA 和 BAFF 结合的效果稍差于阳性抗体。

10.3 基于 ELISA 检测两个候选抗体在人源化改造前后阻断 BCMA 和 APRIL 的效果

具体操作参见实施例 6, 结果显示在 10(B)和 11(B)中, 结果表明, 人源化改造后的抗体阻断 BCMA 和 APRIL 结合的效果稍差于阳性抗体。

10 10.4 基于 FACS 检测候选抗体对人 BCMA-HEK293 细胞的亲和效果

具体操作参见实施例 7, 结果显示在图 12(A)中, 结果表明, 人源化改造前后抗体和人 BCMA-HEK293 细胞结合效果基本一致, 且均优于阳性对照抗体(GSK2857916)。

10.5 基于 FACS 检测候选抗体对猴 BCMA-CHO 细胞的亲和效果

15 具体操作参见实施例 7, 结果显示在图 12(B)中, 结果表明, 人源化改造前后抗体和猴 BCMA-CHO 细胞结合效果基本一致, 且均优于阳性对照抗体(GSK2857916)。

10.6 基于 FACS 检测候选抗体对人骨髓瘤细胞系 H929 细胞的亲和效果

20 具体操作参见实施例 7, 结果显示在图 12(C)中, 结果表明, 人源化改造前后抗体和 H929 细胞结合效果基本一致, 且均优于阳性对照抗体(GSK2857916)。

10.7 抗体在人源化改造前后内吞效应检测

25 在本实施例中, 还检测了两个候选抗体人源化改造前后在人骨髓瘤细胞系 H929 细胞上的内吞效应。具体操作参见实施例 8, 结果显示在图 13-A 和 13-B 中, 结果表明, 人源化抗体 5-6-7-huV2 的内吞效果比人源化前(5-6-7-WT)有部分提升, 其他人源化前后抗体抗体在人骨髓瘤细胞系 H929 细胞上的内吞效果基本一致, 且均优于阳性对照抗体(GSK2857916)。

至此, 两个候选抗体在人源化改造前后所有的检测结果汇总在图 14 中。

30 实施例 11

人源化前后候选抗体 DSF 检测

在本实施例中，检测了两个候选抗体在人源化改造前后以及阳性对照抗体(GSK2857916)的热稳定性数据。具体流程如下：制备抗体溶液，0.25 mg/mL，19 μ L/孔，每个供试品设置三个平行孔，并以 PBS 和 IPI 作为参比。然后在每个孔中加入 1 μ L 浓度为 100 \times 的 SYPRO orange 染料，准备上机。

- 5 利用 ABI 7500 FAST RT-PCR 仪器进行测试，试验类型选择熔解曲线，采用连续模式，扫描温度范围为 25~95 $^{\circ}$ C，升温速率为 1%，25 $^{\circ}$ C 平衡 5 min，在升温过程中采集数据，报告基团选择 ROX，淬灭基团选择 None，反应体积 20 μ L，以熔解曲线一阶导数的第一个峰谷对应的温度确定为候选抗体的变性温度，结果详见表 1-3。

10 表 1-3 人源化抗体热稳定性检测结果

	DSF检测
	T _m 值 $^{\circ}$ C
5-6-7	81.4
5-6-7-hu-2	70.0
5-6-32	68.4
5-6-32-hu-2	71.1
GSK2857916	69.4

实施例 12

人源化前后候选抗体亲和力检测

- 15 在本实施例中，采用 Fortebio Octet RED96 仪器，检测了 5-6-7 和 5-6-32 的人源化前后候选抗体，与人 BCMA 及猴 BCMA 的亲和力。

12.1 材料准备

- 20 称取 1 g 的 BSA，量取 500 μ L 的 Tween 20，加入到 1000 mL 的 1 \times PBS，混匀。过滤后分装保存。吸取 0.1 mL 0.1M pH=2.0 的甘氨酸溶液加入 0.9 mL 的超纯水，混匀。抗体以 KB buffer 稀释成 10 μ g/mL，抗原以 KB buffer 稀释成系列浓度梯度，依次为 200、50、12.5、0 nM。

12.2 实验流程

- 25 避光预湿 sensor(Anti-Human Fba-CH1 2nd Generation, FAB2G)至少 10 min 后开始测试样品板(GreinerBio, PN655209)，测试无误后按预设程序进行。其中，样品板 1 的第 1、10 和 12 列加入 200 μ L/孔的 KB buffer，第 11 列加入 0.01M pH2.0 的甘氨酸溶液，第 2-8 列加入制备好的样品溶液(一个样品加 4 个孔，即一列加 2 个样品)，第九列按照浓度从高到低依次加入人

BCMA-Fc, 即第 1, 5 个孔加入 200 nM 的抗原溶液, 第 2, 6 个孔加入 50 nM 的抗原溶液, 第 3, 7 个孔加入 12.5 nM 的抗原溶液, 第 4, 8 个孔加入 0 nM 的抗原溶液。样品板 2 的准备除第九列的抗原换成猴 BCMA 蛋白, 其余保持不变。数据结果详见表 1-4。

5 表 1-4 人源化抗体与人、猴 BCMA 亲和力检测结果

	人源化抗体与人BCMA的亲和力水平检测				人源化抗体与猴BCMA的亲和力水平检测			
	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)	R2	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)	R2
5-6-7	1.01×10^{-10}	$1.76 \times 10^{+05}$	1.78×10^{-05}	0.99	3.54×10^{-10}	$2.90 \times 10^{+05}$	1.03×10^{-04}	0.99
5-6-7-hu-2	$<1.0 \times 10^{-12}$	$2.96 \times 10^{+05}$	$<1.0 \times 10^{-07}$	0.99	2.93×10^{-11}	$5.12 \times 10^{+05}$	1.50×10^{-05}	0.99
5-6-32	2.12×10^{-10}	$2.29 \times 10^{+05}$	4.85×10^{-05}	0.99	6.38×10^{-10}	$3.72 \times 10^{+05}$	2.37×10^{-04}	0.99
5-6-32-hu-2	4.66×10^{-10}	$3.49 \times 10^{+05}$	1.63×10^{-04}	0.99	6.53×10^{-10}	$6.06 \times 10^{+05}$	3.96×10^{-04}	0.99
GSK2857916	5.39×10^{-11}	$2.20 \times 10^{+05}$	1.19×10^{-05}	0.99	3.52×10^{-10}	$3.17 \times 10^{+05}$	1.11×10^{-04}	0.99

实施例 13

基于上述实施例选定了 5-6-7-hu-2 和 5-6-32-hu-2, 对其进行分析和测序。

10 基于 IMGT 数据库 (<http://www.imgt.org/>) 对人源抗体序列可变区进行定义, 确定本发明抗体轻链和重链可变区的序列 (SEQ ID NO: 13-16), 针对可变区序列进行分析, 采用 AbM 定义 CDR 的方式, 确定了抗体重链和轻链的互补决定区序列 (SEQ ID NO: 1-12)。

本发明保护的序列具体如下:

15 SEQ ID NO: 1
GHIFTNFHFH

SEQ ID NO: 2
GYIFTNYHMH

20 SEQ ID NO: 3
GIYPGNGDTF

25 SEQ ID NO: 4
GIYPGNGDIF

SEQ ID NO: 5

GSYYGYIDAMDY

SEQ ID NO: 6

GSYYGYIDAMDY

5

SEQ ID NO: 7

RASQDISNYLN

SEQ ID NO: 8

10

RASQDISNDLN

SEQ ID NO: 9

YTSRLHS

15

SEQ ID NO: 10

YTSRLPS

SEQ ID NO: 11

QQGNTLPWT

20

SEQ ID NO: 12

QQGHTLPWT

SEQ ID NO: 13

25

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAVKLL
IYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQGNTLPWTFG
QGTKLEIK

SEQ ID NO: 14

30

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNDLNWYQQKPGKAPKLL
IYYTSRLPSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYCQQGHTLPWTFG

QGTKLEIK

SEQ ID NO: 15

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKISCKASGHFTNFHFHWVRQAPGQGLE
 5 WIGGIYPGNGDTFYNQKFQGRATITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC
 VRGSYYGYIDAMDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 16

QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYIFTNYHMHWRQAPGQG
 10 LEWIGGIYPGNGDIFYAQKFQGRATITADKSTSTAYIELSSMRSEDVAVYYC
 ARGSYGYIDAMDYWGQGTSVTVSS

SEQ ID NO: 17

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLI
 15 YYTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYRKLPWTFG
 QGTKLEIK

SEQ ID NO: 18

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSNYWMHWVRQAPGQG
 20 LEWMGATYRGHSDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAV
 YYCARGAIYDGYDVLNWDWGQGLVTVSS

以上所述的具体实施例，对本发明的目的、技术方案和有益效果进行了
 进一步详细说明，应理解的是，以上所述仅为本发明的具体实施例而已，并
 25 不用于限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内，所做的任何修改、等同
 替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

权 利 要 求 书

1. 一种分离的靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体, 其中, 所述
5 抗体既能结合人 BCMA 也能结合猴 BCMA。
2. 根据权利要求 1 所述的单克隆抗体, 所述抗体选自以下的任一种:
- (1) 抗体, 其包含重链可变区, 所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 或 2
所示的重链互补决定区 1(CDR-H1), 和/或包含 SEQ ID NO: 3 或 4 所示的重
链互补决定区 2(CDR-H2), 和/或包含 SEQ ID NO: 5 或 6 所示的重链互补决
10 定区 3(CDR-H3);
- (2) 抗体, 其包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 或 8
所示的轻链互补决定区 1(CDR-L1), 和/或包含 SEQ ID NO: 9 或 10 所示的轻
链互补决定区 2(CDR-L2), 和/或包含 SEQ ID NO: 11 或 12 所示的轻链互补
决定区 3(CDR-L3);
- 15 (3) 抗体, 包含(1)所述抗体的重链可变区及(2)所述抗体的轻链可变
区;
- (4) 抗体, (1)~(3)中任一项所述的抗体的变体, 且具备与(1)~(3)中任一
项所述的抗体相同或相似的活性。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗体, 其特征在于, 所述抗体选自以下的
20 任一种:
- (1) 抗体, 包含轻链可变区, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 13 或 14
所示的氨基酸序列、或上述序列的变体;
- (2) 抗体, 包含重链可变区, 所述重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16
所示的氨基酸序列、或上述序列的变体;
- 25 (3) 抗体, 包含(1)所述抗体的重链可变区及(2)所述抗体的轻链可变
区。
4. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的
重链可变区包含 SEQ ID NO: 1 所示的 CDR-H1, SEQ ID NO: 3 所示的
CDR-H2 和 SEQ ID NO: 5 所示的 CDR-H3。
- 30 5. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体

的重链可变区包含 SEQ ID NO: 2 所示的 CDR-H1, SEQ ID NO: 4 所示的 CDR-H2 和 SEQ ID NO: 6 所示的 CDR-H3。

6. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的轻链可变区包含 SEQ ID NO: 7 所示的 CDR-L1, SEQ ID NO: 9 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 11 所示的 CDR-L3。

7. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的轻链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示的 CDR-L1, SEQ ID NO: 10 所示的 CDR-L2 和 SEQ ID NO: 12 所示的 CDR-L3。

8. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的轻链可变区具有 SEQ ID NO: 13 或 14 所示的序列, 或具有与上述任一序列至少 80%, 例如, 85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。

9. 根据权利要求 1~3 中任一项所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的重链可变区具有 SEQ ID NO: 15 或 16 所示的序列, 或具有与上述任一序列至少 80%, 例如, 85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的序列。

10. 一种靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体, 其特征在于, 该抗体与权利要求 1-9 中任一项所述的抗体识别相同的抗原决定部位。

11. 一种靶向 B 细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体, 其特征在于, 该抗体与权利要求 1-9 中任一项所述的抗体竞争性结合 B 细胞成熟抗原(BCMA)。

12. 编码权利要求 1-11 中任一项所述的抗体的核酸。

13. 一种表达载体, 其包含权利要求 12 所述的核酸。

14. 一种宿主细胞, 其包含权利要求 13 所述的表达载体或基因组中整合有权利要求 12 所述的核酸。

15. 一种生产单克隆抗体的方法, 所述方法包括培养根据项 14 所述的宿主细胞从而生产根据权利要求 1~11 中任一项所述的单克隆抗体。

16. 一种药物组合物, 其包含根据权利要求 1~11 中任一项所述的单克隆抗体和药学上可接受的载体。

17. 一种药盒或制品, 其包括根据权利要求 1~11 中任一项所述的单克隆抗体或根据权利要求 16 所述的药物组合物。

18. 一种治疗与 BCMA 的表达相关的疾病的方法，其包括：

向有此需要的受试者给药权利要求 1~11 中任一项所述的单克隆抗体或权利要求 16 所述的药物组合物或权利要求 17 所述的药盒或制品。

19. 根据权利要求 18 所述的方法，其中，所述疾病选自 B 细胞急性淋巴性白血病、T 细胞急性淋巴性白血病、急性淋巴性白血病、慢性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、B 细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细
5 胞白血病，小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、恶性淋巴增殖状况、MALT 淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样
10 树突状细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨髓瘤、MGUS、浆细胞瘤、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性和 POEMS 综合征。

20. 根据权利要求 18 或 19 所述的方法，其中，所述疾病为多发性骨髓瘤。

21. 根据权利要求 1~11 中任一项所述的单克隆抗体在制备用于治疗与 BCMA 的表达相关的疾病的药物中的用途。

22. 根据权利要求 21 所述的用途，其中，所述疾病选自 B 细胞急性淋巴性白血病、T 细胞急性淋巴性白血病、急性淋巴性白血病、慢性髓性白血病、慢性淋巴细胞白血病、B 细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树
20 突状细胞瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病，小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴瘤、恶性淋巴增殖状况、MALT 淋巴瘤、外套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样
25 树突状细胞瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、骨髓瘤、MGUS、浆细胞瘤、系统性淀粉样蛋白轻链淀粉样变性和 POEMS 综合征。

23. 根据权利要求 21 或 22 所述的用途，其中，所述疾病为多发性骨髓瘤。



图 1

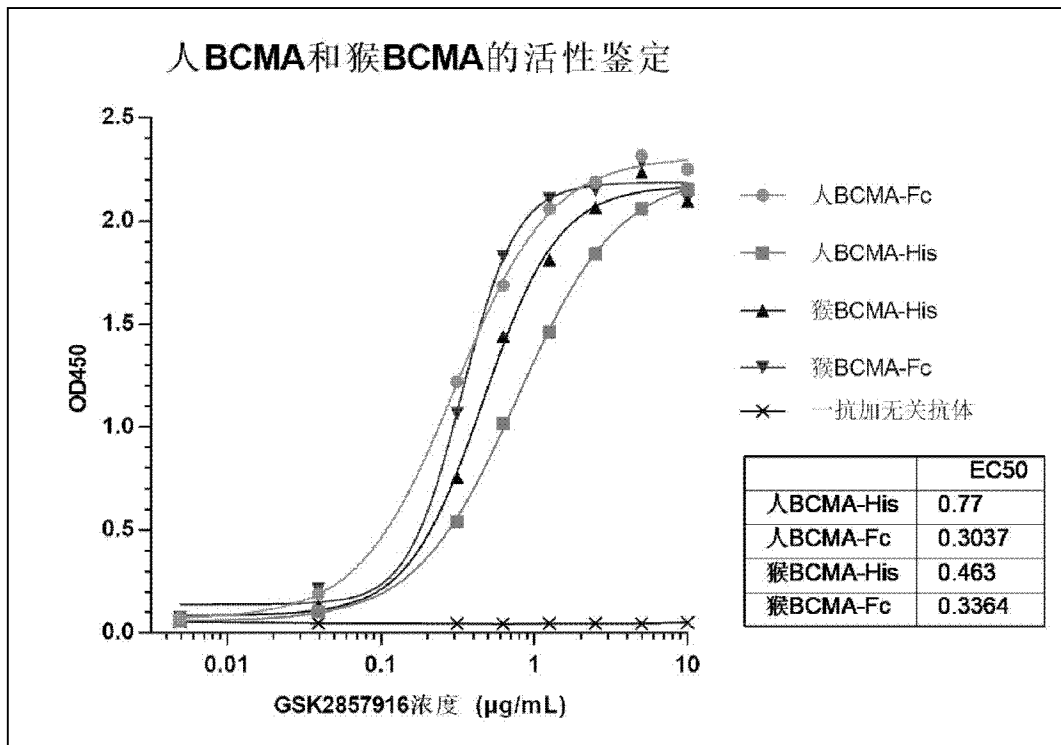


图 2(A)

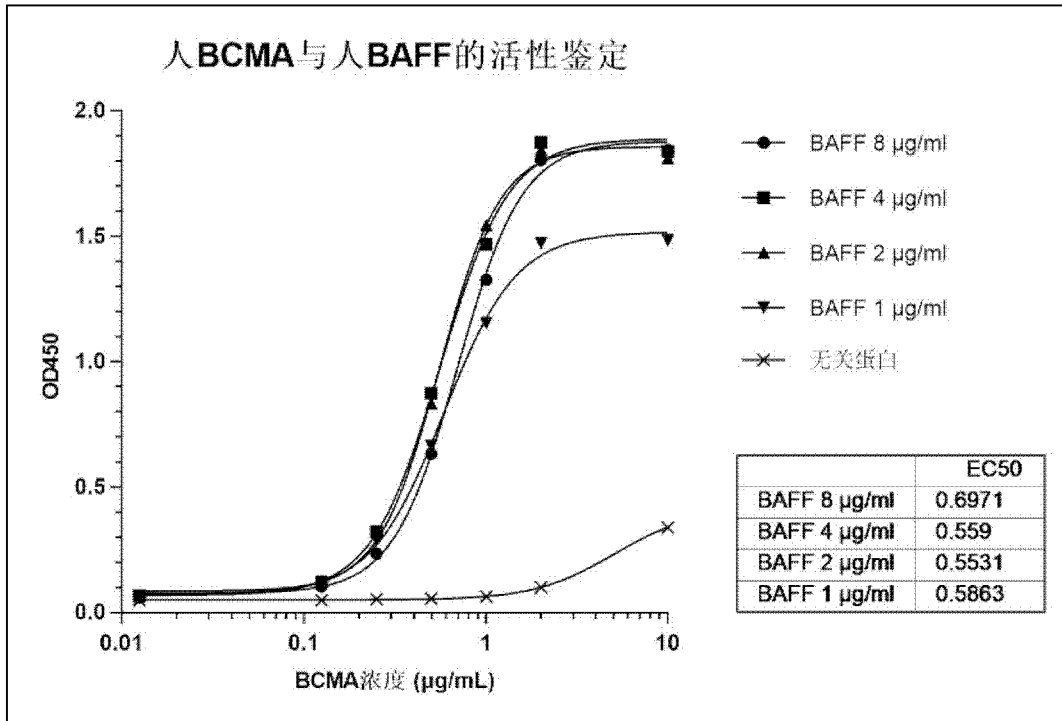


图 2(B)

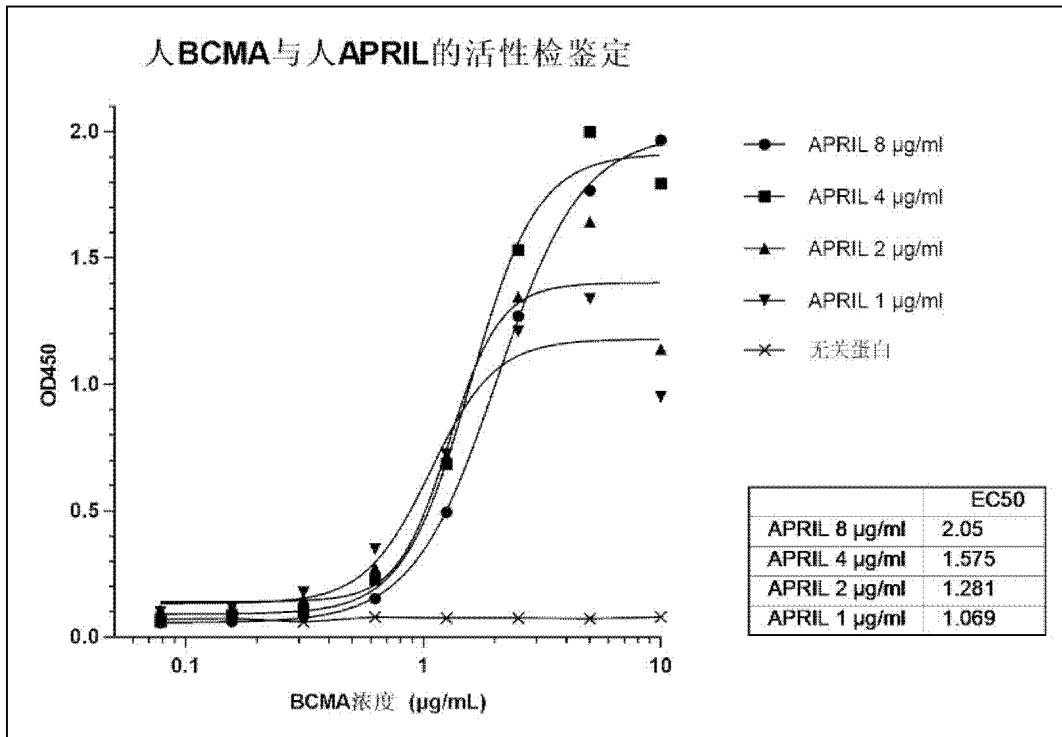


图 2(C)

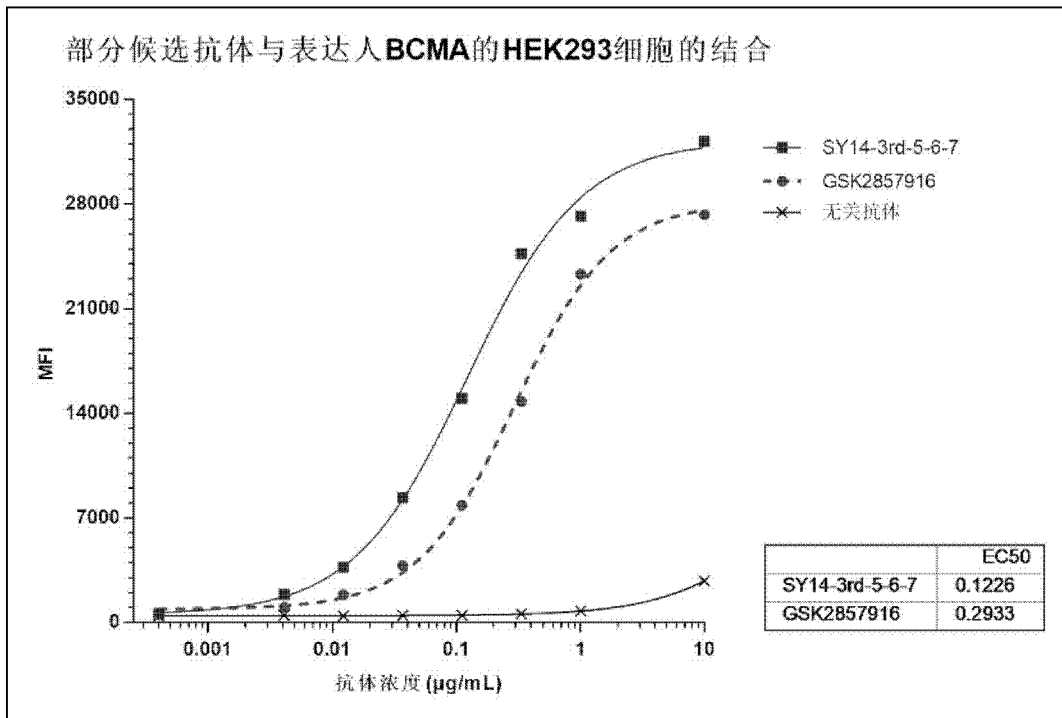


图 3(A)

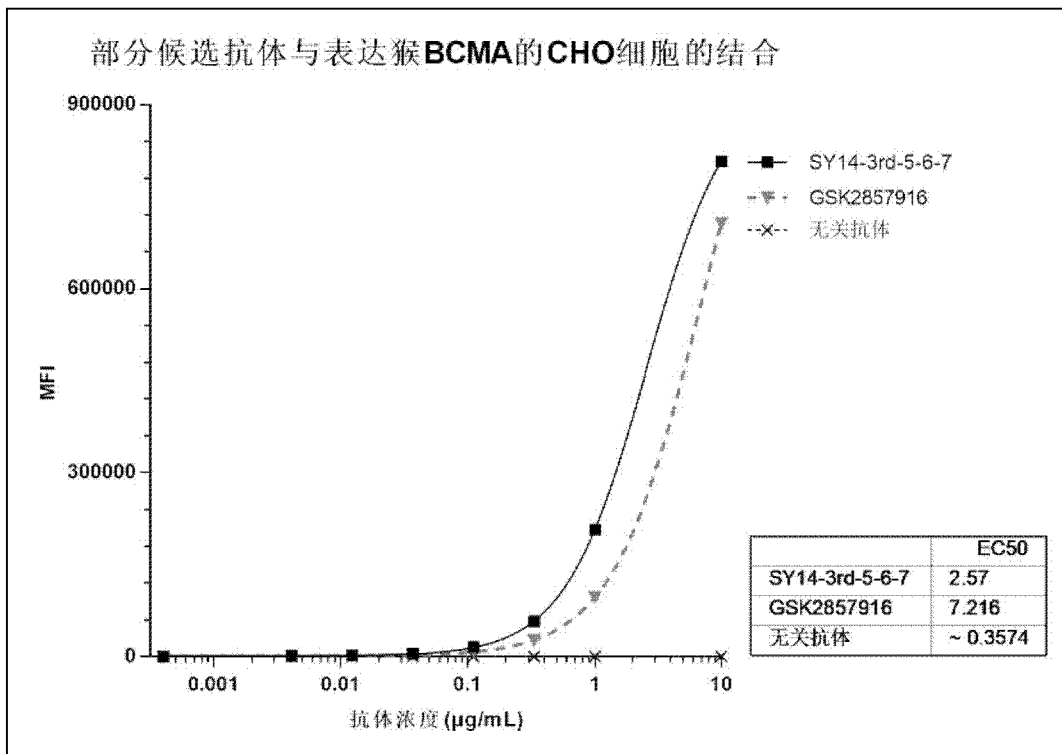


图 3(B)

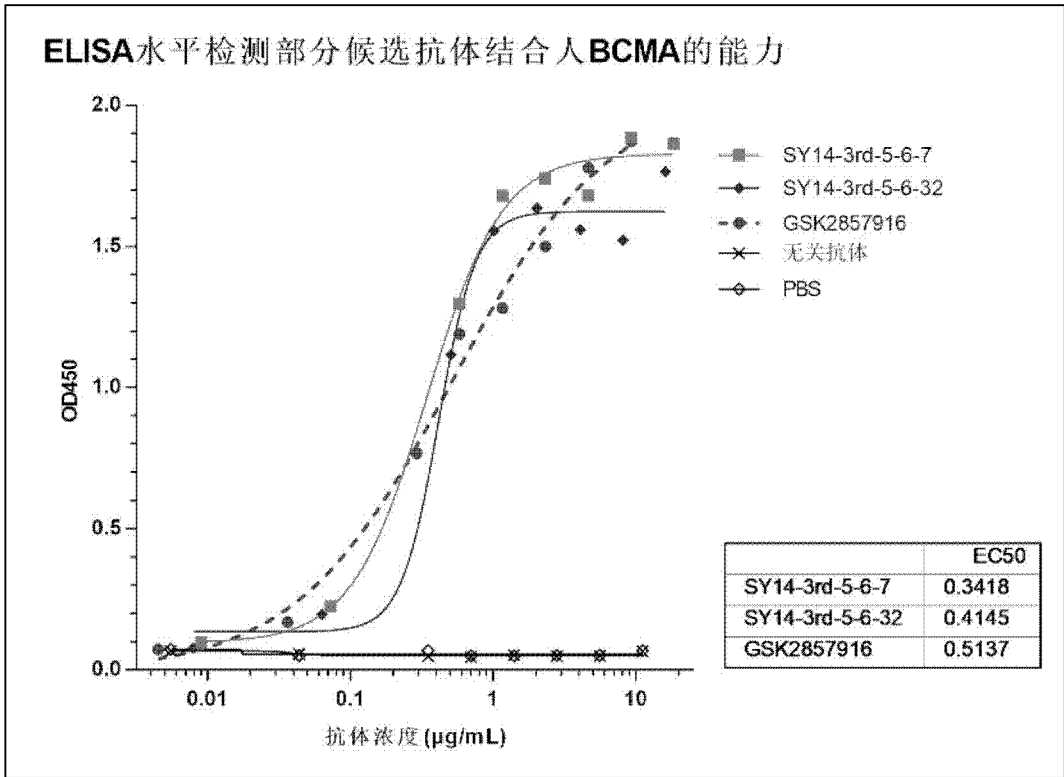


图 4(A)

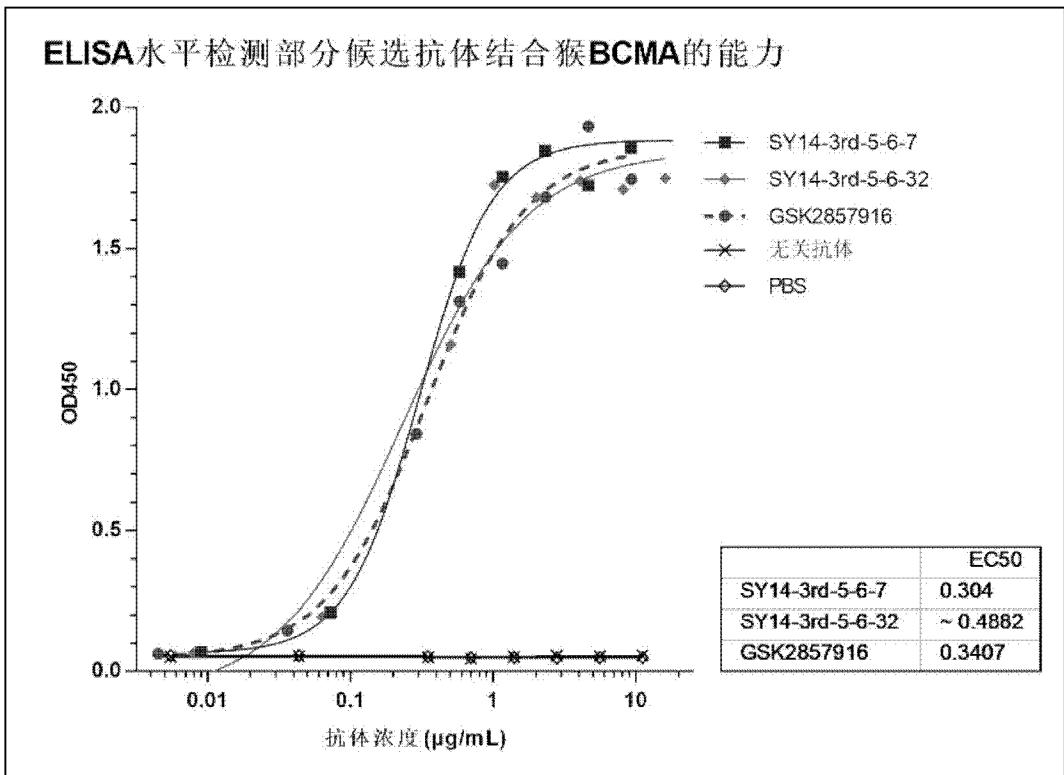


图 4(B)

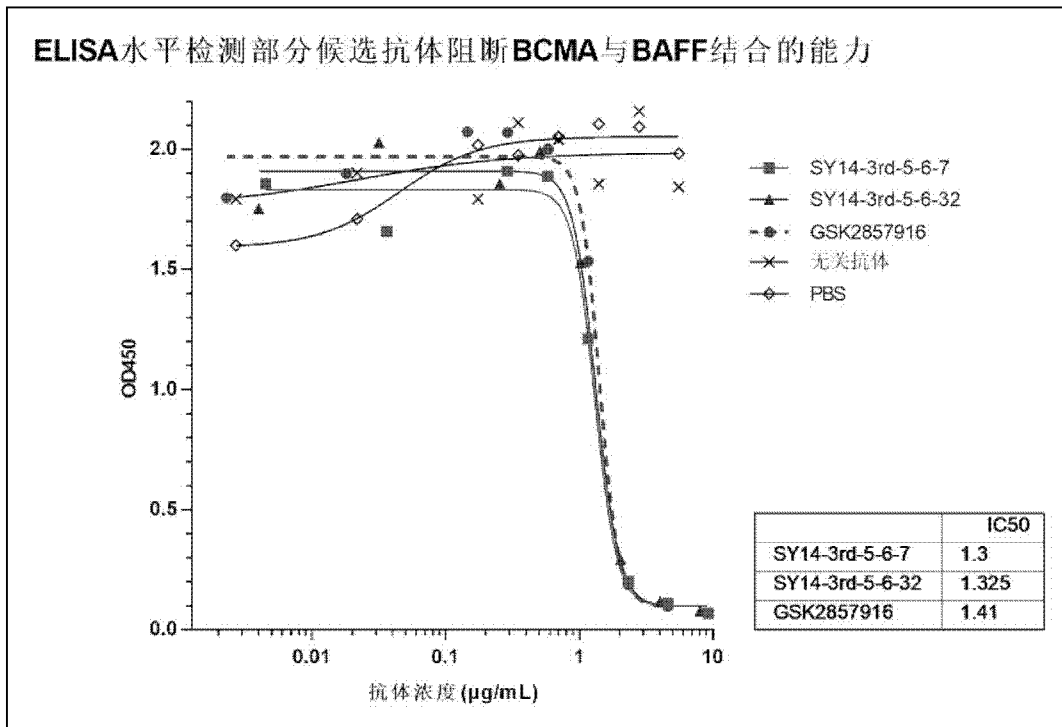


图 5(A)

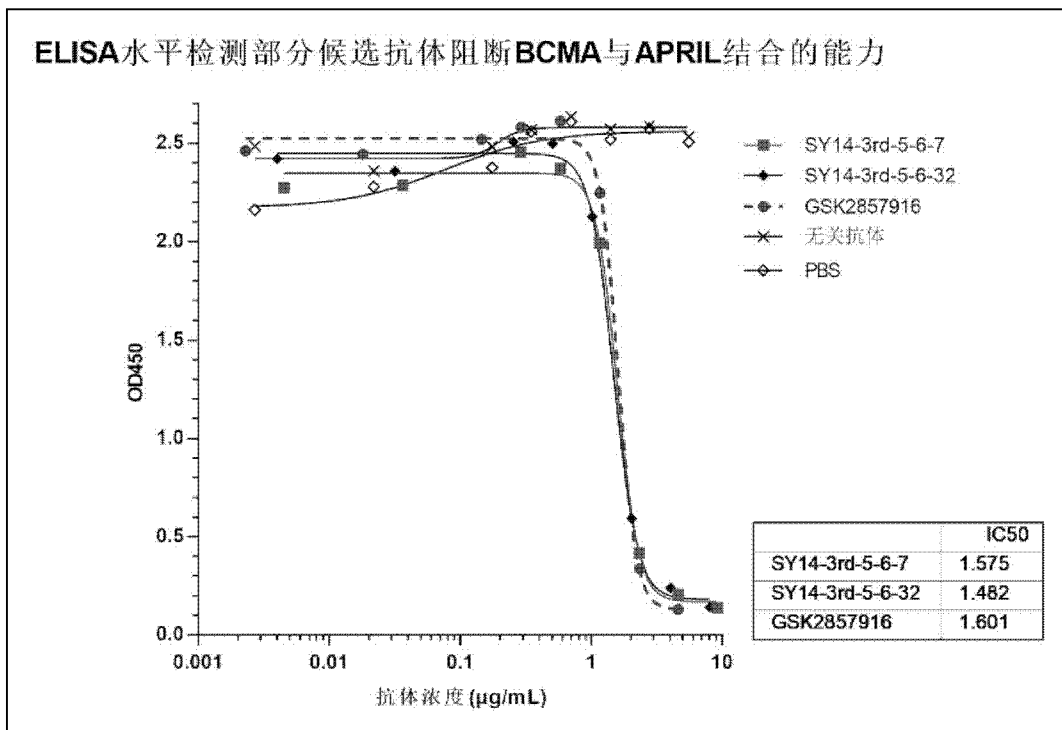


图 5(B)

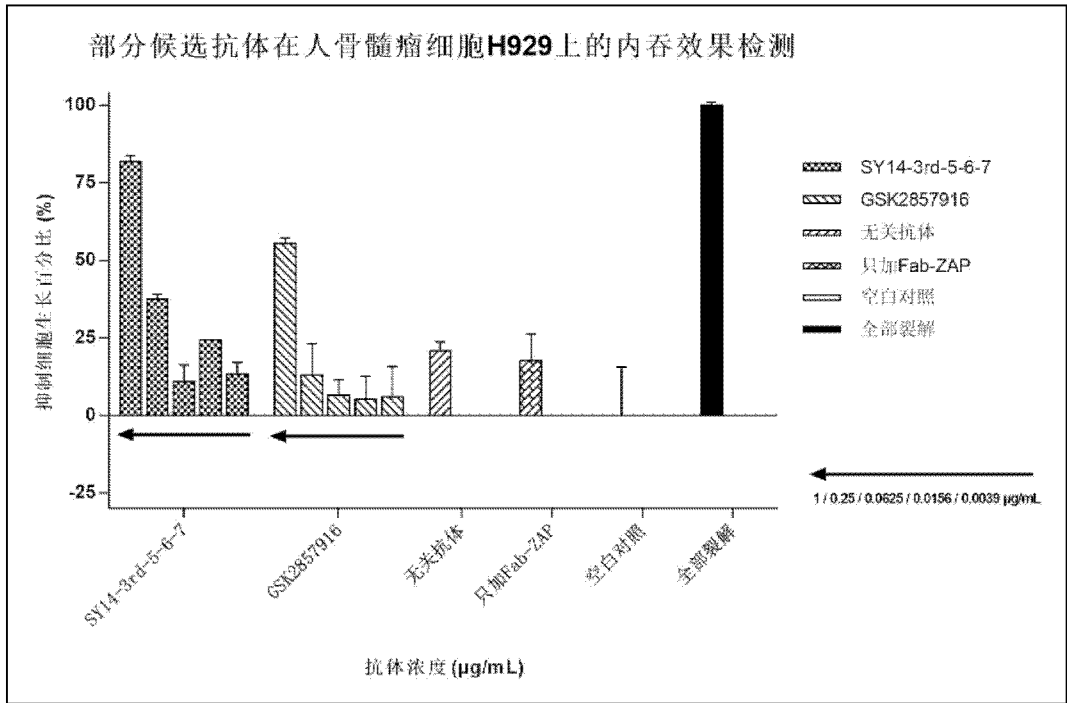


图 6(A)

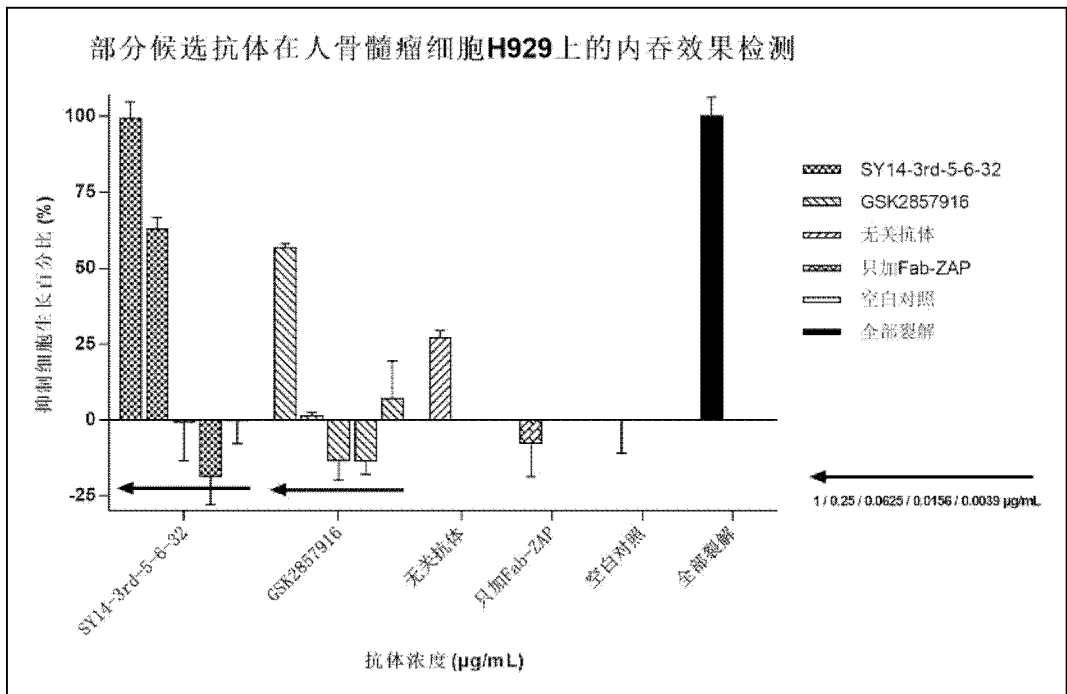


图 6(B)

候选抗体	ELISA水平与人BCMA的亲和效果	ELISA水平与猴BCMA的亲和效果	ELISA水平阻断人BCMA与人BAFF结合的效果	ELISA水平阻断人BCMA与人APRIL结合的效果	细胞水平与人BCMA的亲和效果	细胞水平与猴BCMA的亲和效果	骨髓瘤细胞H929上的内吞效应
SY14-3rd-5-6-7	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
SY14-3rd-5-6-32	++++	++++	++++	++++	N/A	N/A	++++
GSK2857916	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

图 7

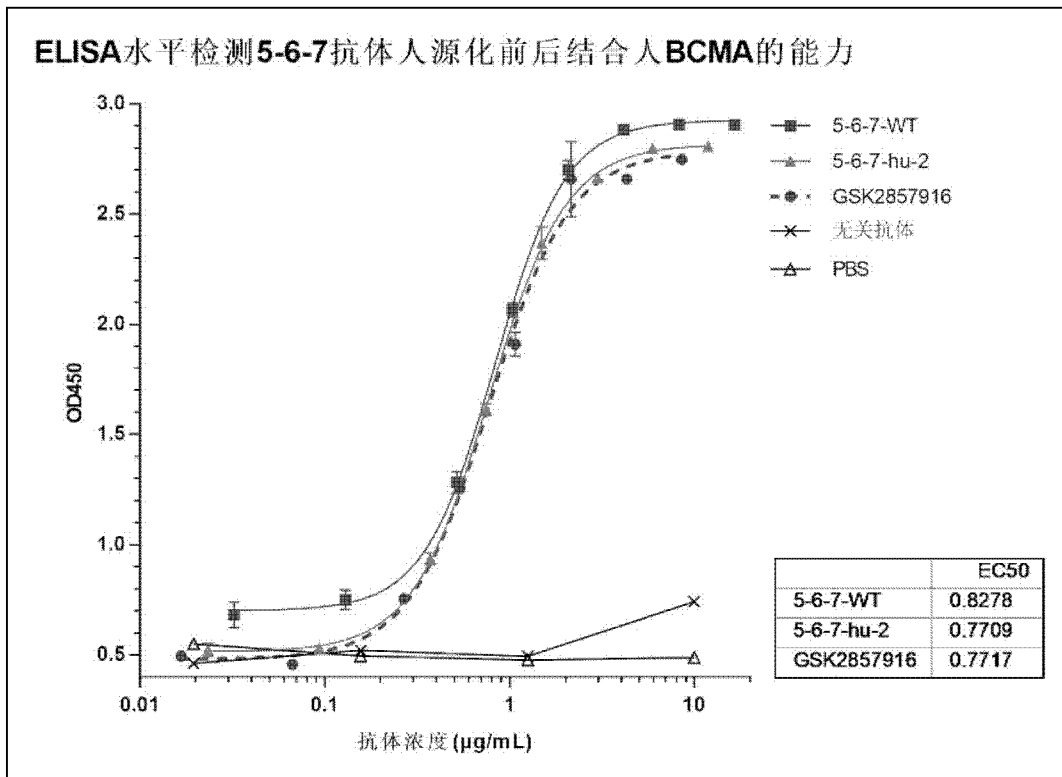


图 8(A)

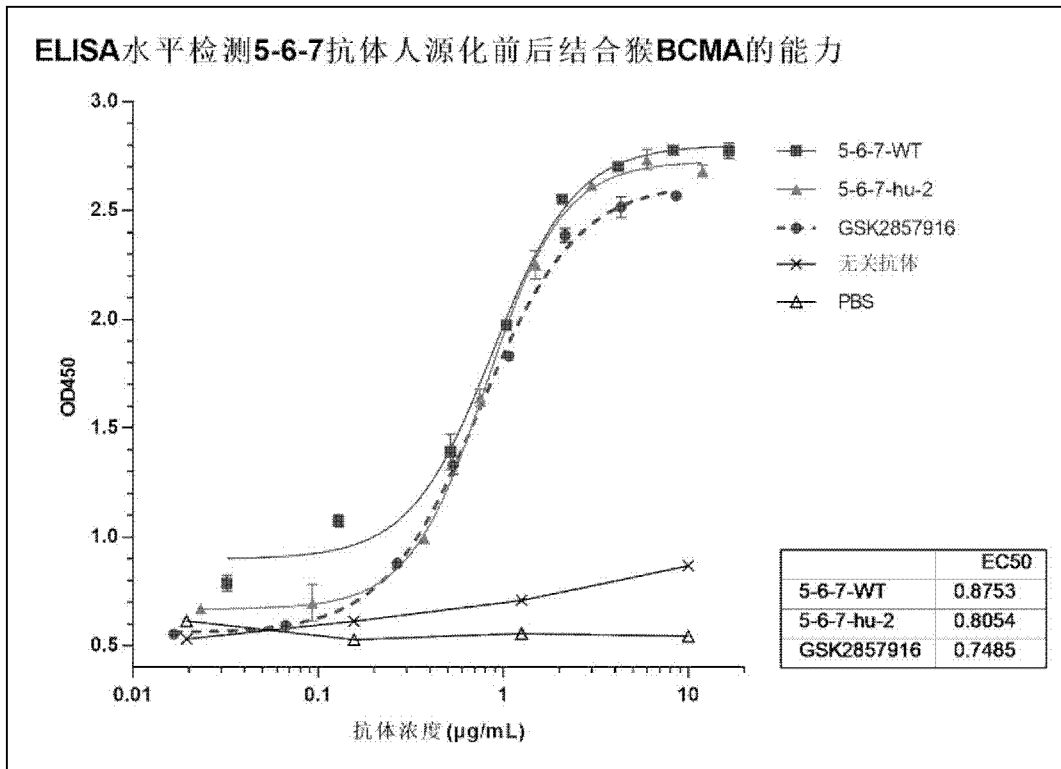


图 8(B)

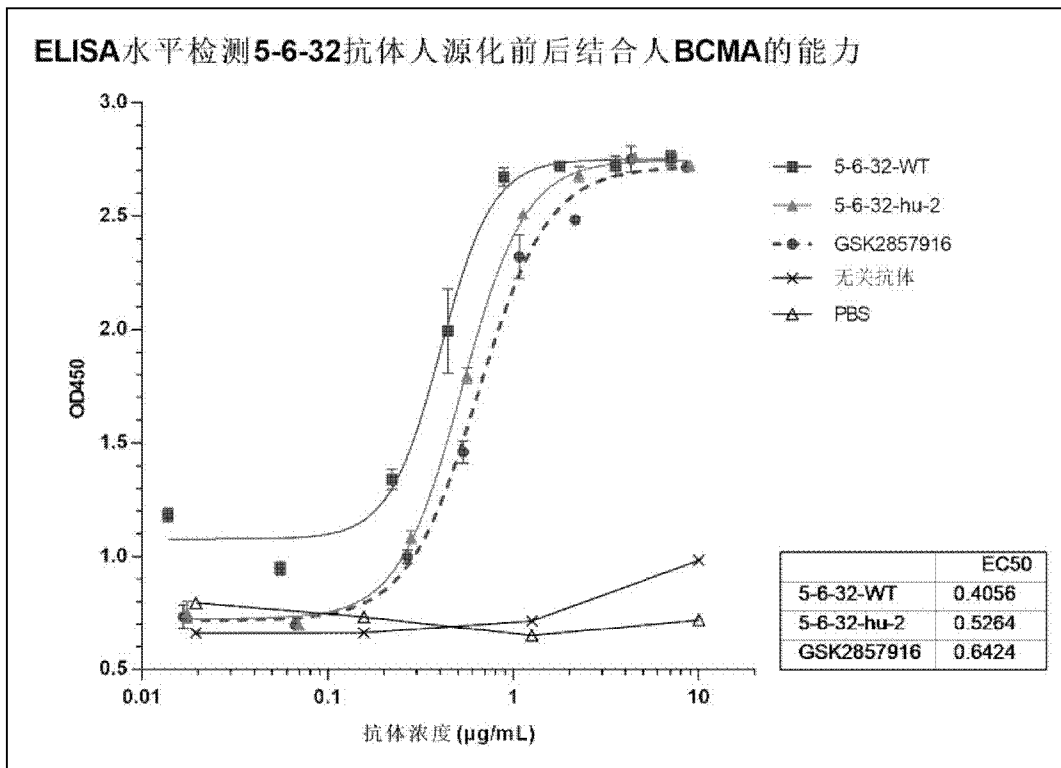


图 9(A)

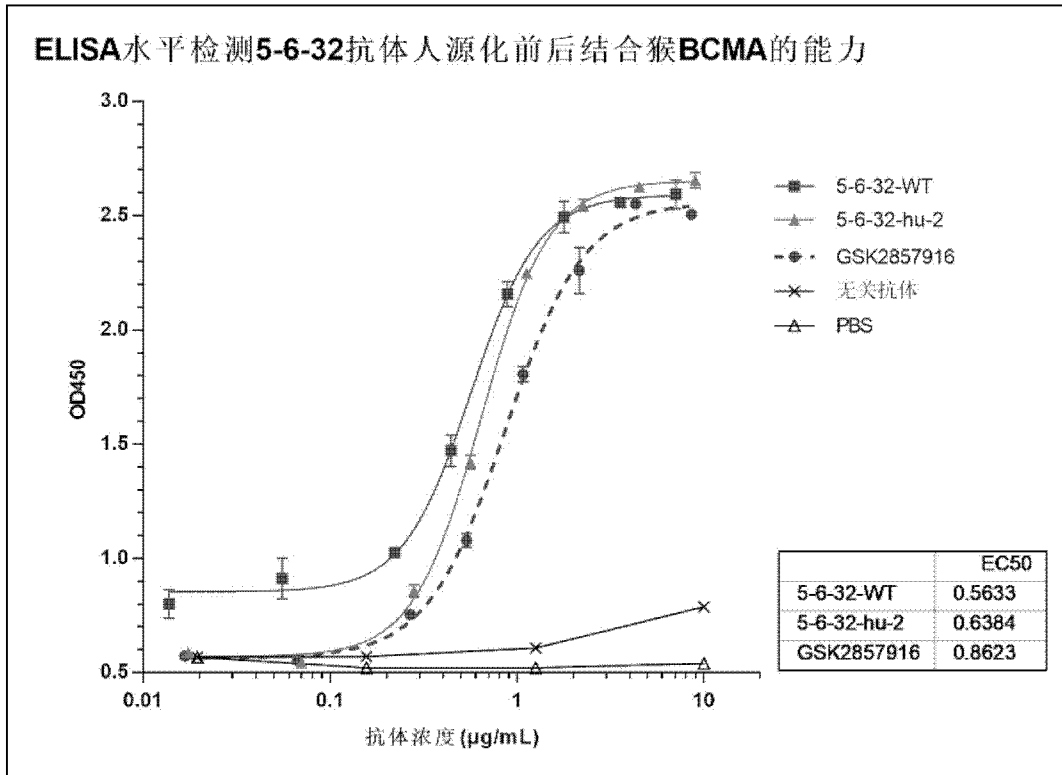


图 9(B)

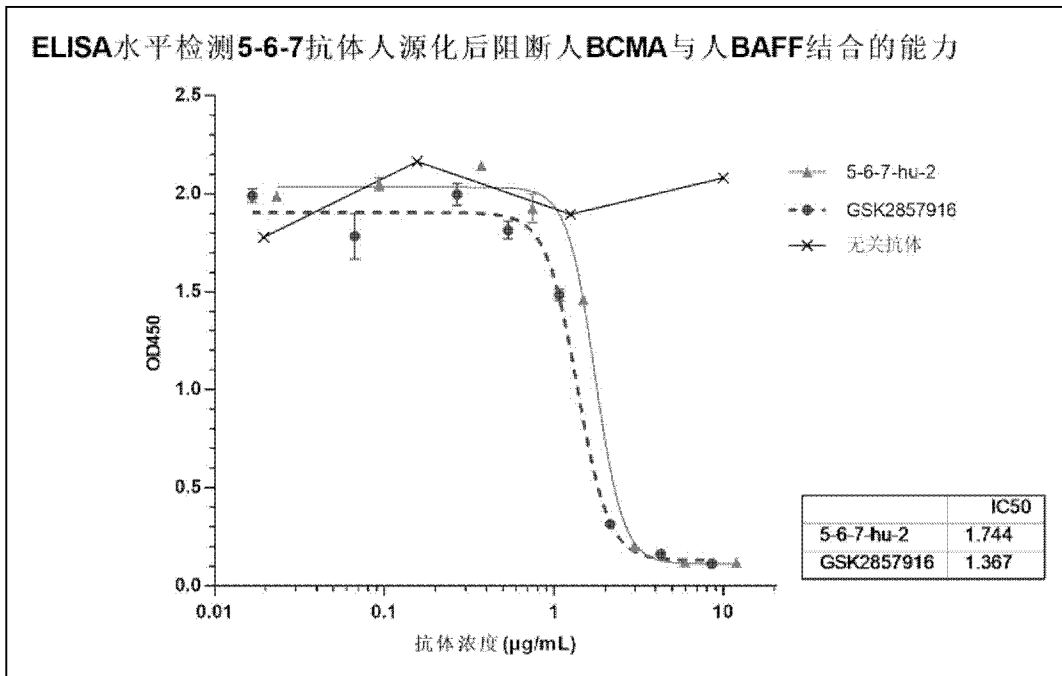


图 10(A)

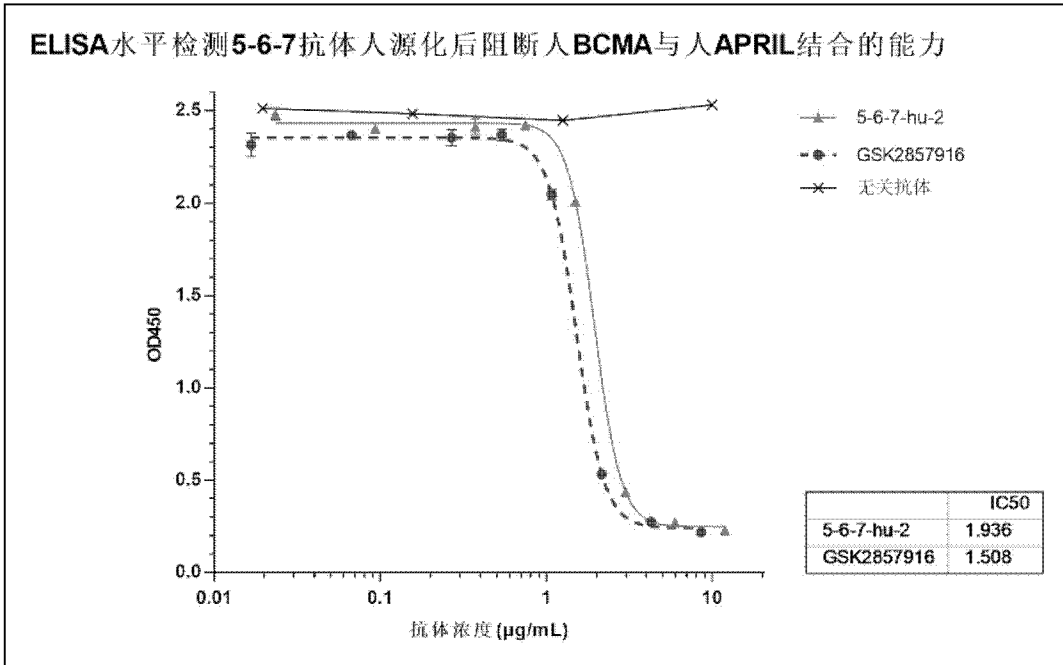


图 10(B)

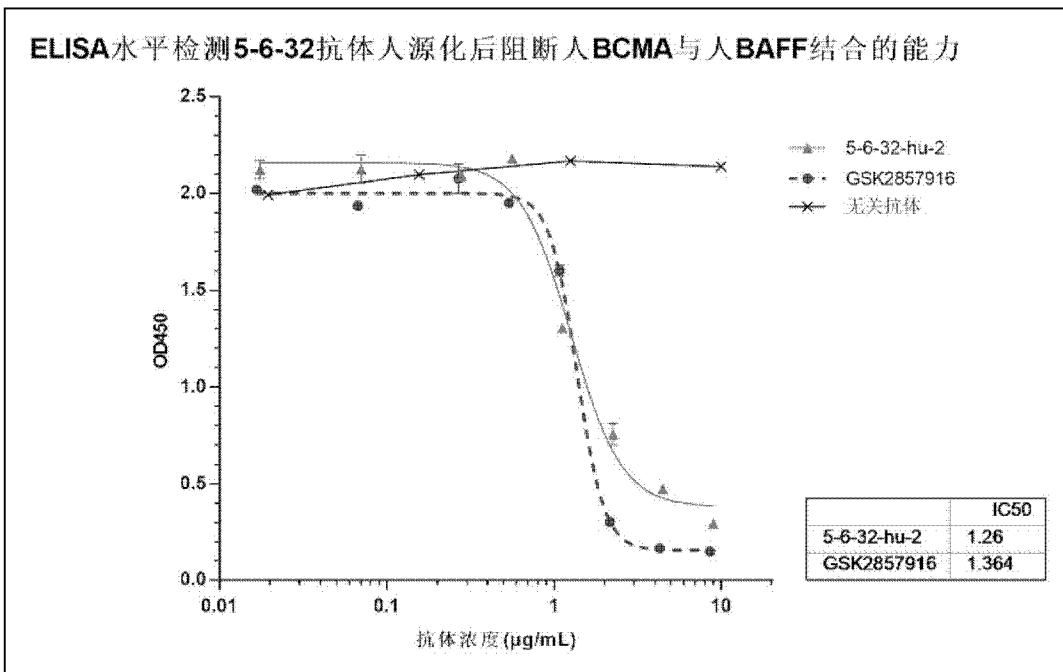


图 11(A)

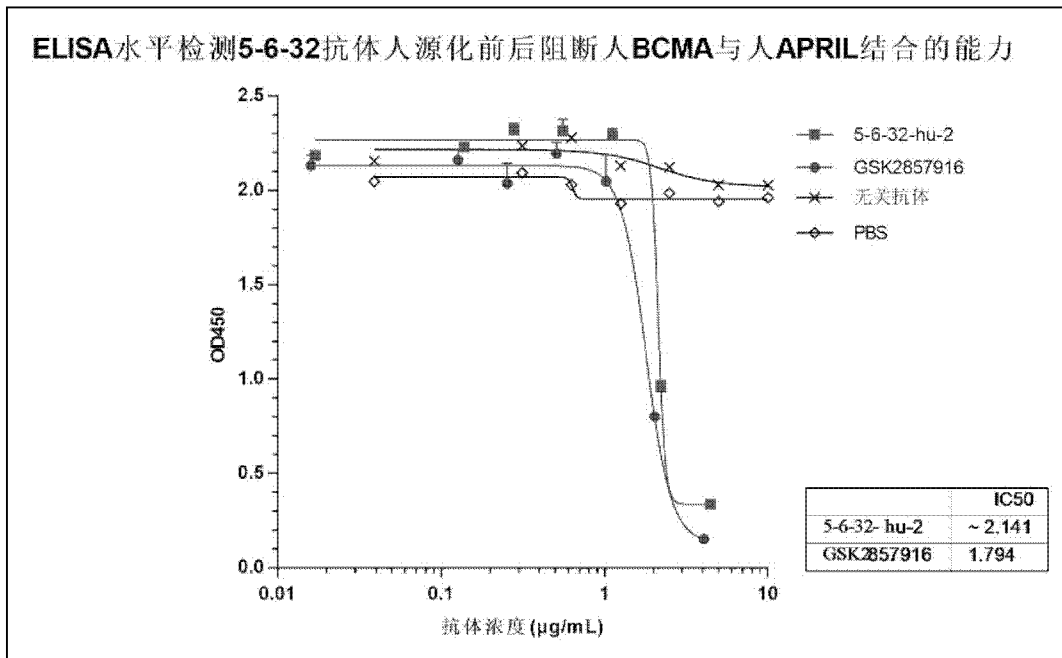


图 11(B)

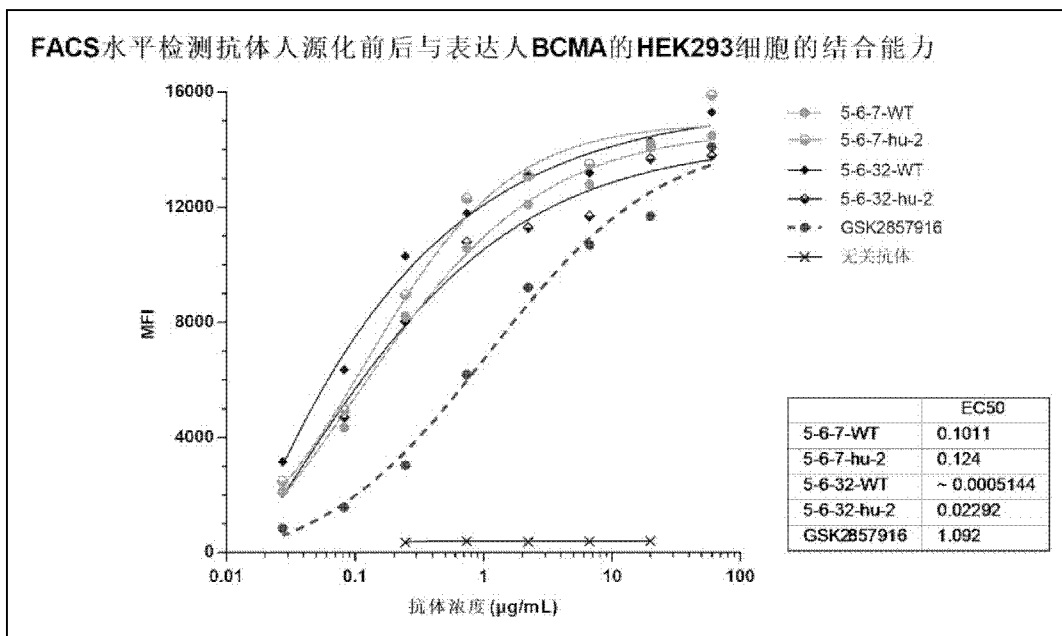


图 12(A)

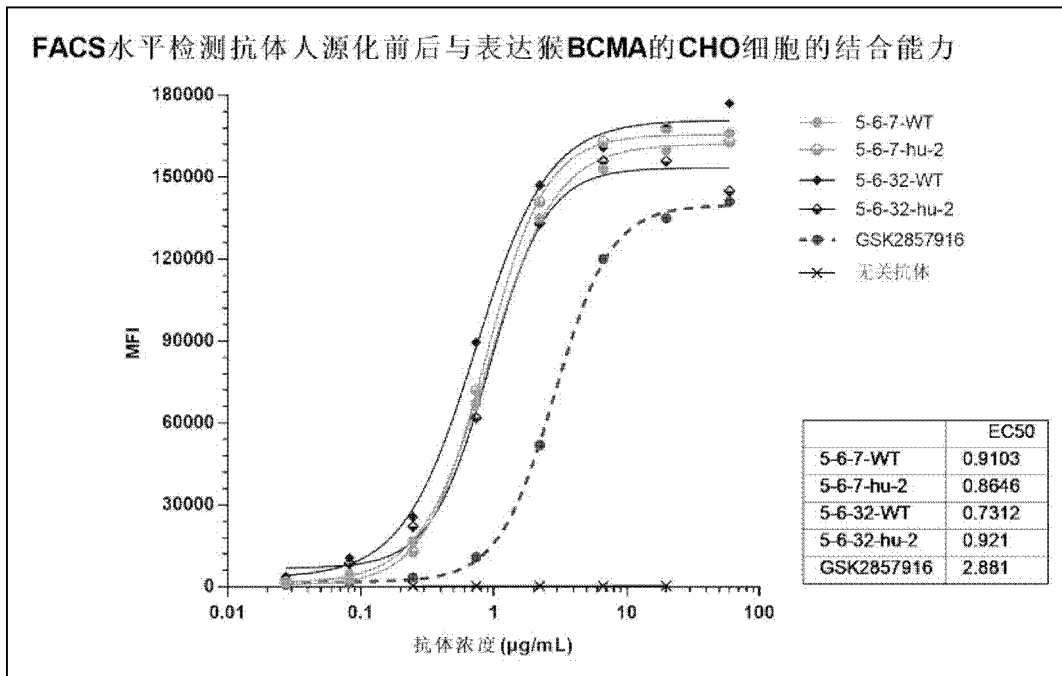


图 12(B)

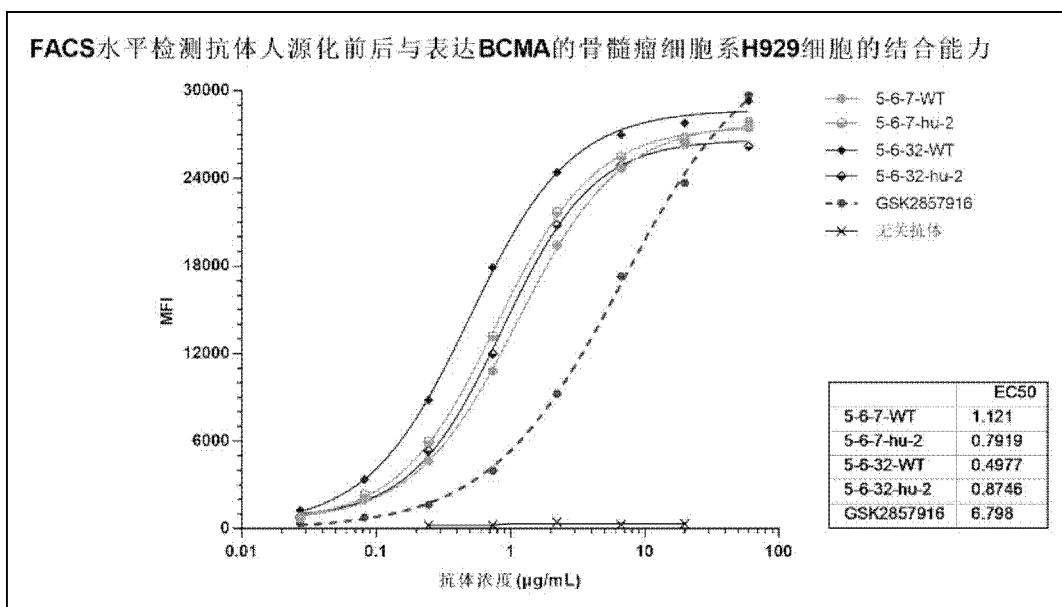


图 12(C)

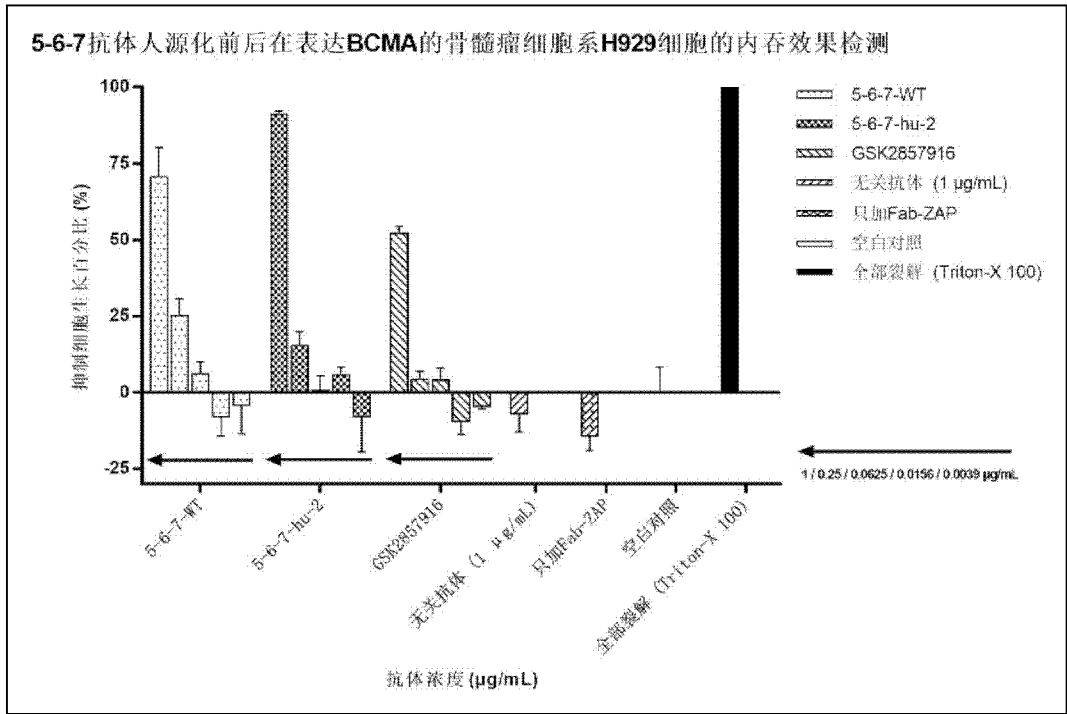


图 13(A)

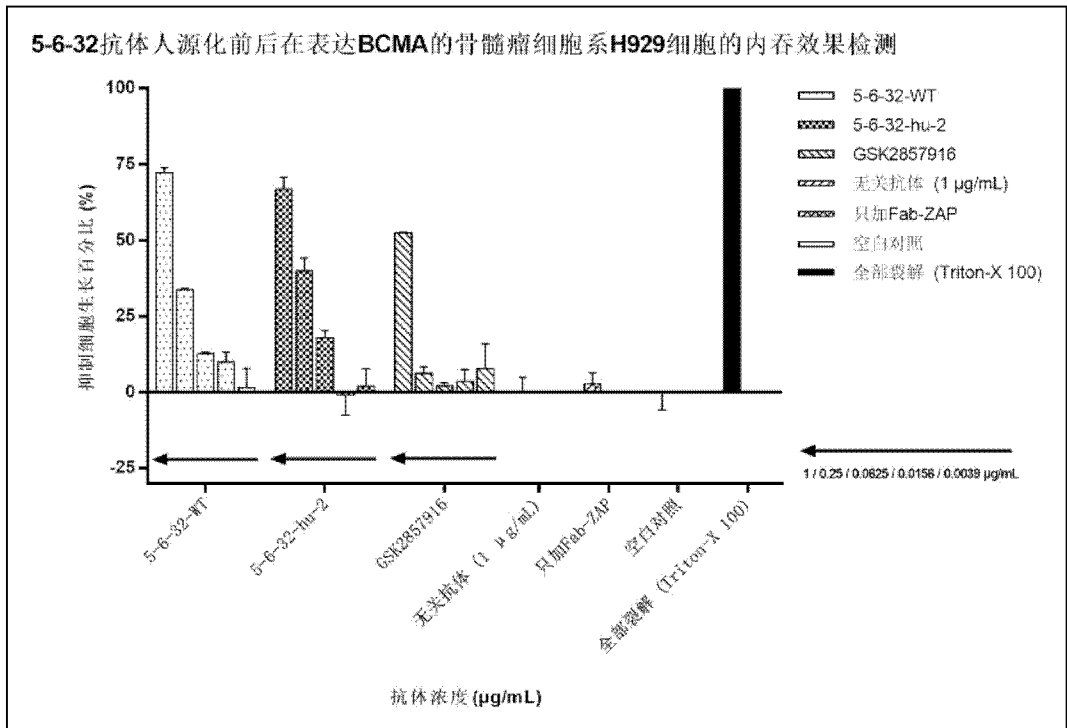


图 13(B)

抗体名称	恢复突变数		人源化比例			ELISA水平检测候选抗体与BCMA的亲合效果		ELISA水平检测候选抗体阻断人BCMA和配体结合的效果		细胞水平检测候选抗体与BCMA的亲合效果			
	VH	VL	VH	VL	VH+VL	人BCMA	猴BCMA	人BAFF	人APRIL	人BCMA-HEK293细胞	猴BCMA-CHO细胞	骨髓瘤H929细胞	骨髓瘤H929细胞
5-5-7-WT	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
5-6-7-Eu-2	4	2	95.5%	97.6%	96.5%	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
5-5-32-WT	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
5-5-32-hu-2	4	1	95.5%	98.8%	97.1%	++++	++++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
GSK2857916	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

图 14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/117757

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 16/28(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K; A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) 数据库: CNABS, VEN(DWPI+SIPOABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, CNKI, 百度学术, ISI-WEB OF SCIENCE, PubMed, Genbank+EMBL+DDBJ, 中国专利生物序列检索系统; 检索词: B细胞成熟抗原, BCMA, CD269, B cell maturation antigen, B cell mature antigen, 单克隆抗体, 单抗, monoclonal antibody, monoclonal antibodies, mab, mabs, mcab, mcabs, sequence search for SEQ ID NO: 1		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2017021450 A1 (ENGMAB AG) 09 February 2017 (2017-02-09) see description, abstract, description, page 4 line 13 to page 21 line 29	1-17, 21-23 (all in part)
A	刘敏杰 等 (LIU, Mingjie et al.). "以B细胞成熟抗原为靶点的免疫疗法在多发性骨髓瘤中的研究进展 (Research Progress in B Cell Maturation Antigen-Targeted Immunotherapy in Multiple Myeloma)" 兰州大学学报(医学版) (<i>Journal of Lanzhou University (Medical Sciences)</i>), Vol. 45, No. 4, 08 August 2019 (2019-08-08), ISSN: 1000-2812, see pp. 67-71	1-17, 21-23 (all in part)
A	Eckhart, E et al. "B-cell maturation antigen directed monoclonal antibody therapies for multiple myeloma" <i>IMMUNOTHERAPY</i> , Vol. 11, No. 9, 16 May 2019 (2019-05-16), ISSN: 1750-743X, see pp. 801-811	1-17, 21-23 (all in part)
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 December 2020		Date of mailing of the international search report 30 December 2020
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/ CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China		Authorized officer
Facsimile No. (86-10)62019451		Telephone No.

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **18-20**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Claims 18-20 relate to a method for treatment of the human or animal body.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- [1] Inventions 1-63: claims 1-17 and 21-23 (all in part), each relating to an isolated, B cell mature antigen (BCMA)-targeted monoclonal antibody, the antibody containing a heavy-chain complementarity determining region 1 (CDR-H1) as shown in SEQ ID NOs: 1 or 2, and/or containing a heavy-chain complementarity determining region 2 (CDR-H2) as shown in SEQ ID NOs: 3 or 4, and/or containing a heavy-chain complementarity determining region 3 (CDR-H3) as shown in SEQ ID NOs: 5 or 6, and/or containing a light-chain complementarity determining region 1 (CDR-L1) as shown in SEQ ID NOs: 7 or 8, and/or containing a light-chain complementarity determining region 2 (CDR-L2) as shown in SEQ ID NOs: 9 or 10, and/or containing a light-chain complementarity determining region 3 (CDR-L3) as shown in SEQ ID NOs: 11 or 12.
- [2] Because the sequence combinations of the H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, and CDR-L3 to which inventions 1-63 relate differ, and thus the antibody molecules formed or the structures of fragments thereof differ, the various inventions therefore do not share a same or corresponding special technical feature, do not share a technical relationship, do not form a single general inventive concept, and thus do not comply with PCT Rules 13.1, 13.2, and 13.3.

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **1-17, 21-23 (all in part)**

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2020/117757

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2017021450	A1	09 February 2017	KR	20180042271	A	25 April 2018
				AU	2016302881	A1	08 February 2018
				PL	3331910	T3	18 May 2020
				JP	2018532766	A	08 November 2018
				LT	3331910	T	25 March 2020
				CN	108350073	A	31 July 2018
				CO	2018001149	A2	10 July 2018
				US	2019352427	A1	21 November 2019
				IL	257233	D0	29 March 2018
				JP	6682632	B2	15 April 2020
				EP	3331910	B1	11 December 2019
				US	10683369	B2	16 June 2020
				BR	112018001955	A2	18 September 2018
				CA	2992797	A1	09 February 2017
				MX	2018001398	A	28 May 2018
				SI	3331910	T1	31 July 2020
				EA	201890441	A1	31 July 2018
				DK	3331910	T3	16 March 2020
				JP	2020109117	A	16 July 2020
				PT	3331910	T	24 March 2020
				HK	1249114	A1	26 October 2018
				RS	60030	B1	30 April 2020
				EP	3670535	A1	24 June 2020
				EC	SP18007905	A	31 October 2018
				ZA	201800435	B	19 December 2018
				ES	2777602	T3	05 August 2020
				CL	2018000281	A1	09 November 2018
				HR	P20200390	T1	12 June 2020
				EP	3331910	A1	13 June 2018

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2020/117757

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 16/28(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>														
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>数据库: CNABS, VEN(DWPI+SIP0ABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, CNKI, 百度学术, ISI-WEB OF SCIENCE, PubMed, Genbank+EMBL+DBJ, 中国专利生物序列检索系统; 检索词: B细胞成熟抗原, BCMA, CD269, B cell maturation antigen, B cell mature antigen, 单克隆抗体, 单抗, monoclonal antibody, monoclonal antibodies, mab, mabs, mcab, mcabs, 对序列SEQ ID NO:1的检索</p>														
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>WO 2017021450 A1 (ENGMAB AG) 2017年 2月 9日 (2017 - 02 - 09) 参见说明书摘要、说明书第4页第13行至第21页第29行</td> <td>1-17、21-23 (都是部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>刘敏杰等. “以B细胞成熟抗原为靶点的免疫疗法在多发性骨髓瘤中的研究进展” 兰州大学学报(医学版), 第45卷, 第4期, 2019年 8月 8日 (2019 - 08 - 08), ISSN: 1000-2812, 参见第67-71页</td> <td>1-17、21-23 (都是部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>Eckhert, E等. “B-cell maturation antigen directed monoclonal antibody therapies for multiple myeloma” IMMUNOTHERAPY, 第11卷, 第9期, 2019年 5月 16日 (2019 - 05 - 16), ISSN: 1750-743X, 参见第801-811页</td> <td>1-17、21-23 (都是部分)</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	WO 2017021450 A1 (ENGMAB AG) 2017年 2月 9日 (2017 - 02 - 09) 参见说明书摘要、说明书第4页第13行至第21页第29行	1-17、21-23 (都是部分)	A	刘敏杰等. “以B细胞成熟抗原为靶点的免疫疗法在多发性骨髓瘤中的研究进展” 兰州大学学报(医学版), 第45卷, 第4期, 2019年 8月 8日 (2019 - 08 - 08), ISSN: 1000-2812, 参见第67-71页	1-17、21-23 (都是部分)	A	Eckhert, E等. “B-cell maturation antigen directed monoclonal antibody therapies for multiple myeloma” IMMUNOTHERAPY, 第11卷, 第9期, 2019年 5月 16日 (2019 - 05 - 16), ISSN: 1750-743X, 参见第801-811页	1-17、21-23 (都是部分)
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
A	WO 2017021450 A1 (ENGMAB AG) 2017年 2月 9日 (2017 - 02 - 09) 参见说明书摘要、说明书第4页第13行至第21页第29行	1-17、21-23 (都是部分)												
A	刘敏杰等. “以B细胞成熟抗原为靶点的免疫疗法在多发性骨髓瘤中的研究进展” 兰州大学学报(医学版), 第45卷, 第4期, 2019年 8月 8日 (2019 - 08 - 08), ISSN: 1000-2812, 参见第67-71页	1-17、21-23 (都是部分)												
A	Eckhert, E等. “B-cell maturation antigen directed monoclonal antibody therapies for multiple myeloma” IMMUNOTHERAPY, 第11卷, 第9期, 2019年 5月 16日 (2019 - 05 - 16), ISSN: 1750-743X, 参见第801-811页	1-17、21-23 (都是部分)												
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>														
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>														
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2020年 12月 11日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2020年 12月 30日</p>												
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>徐益君</p> <p>电话号码 86-(010)-62411083</p>												

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a. 作为国际申请的一部分提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式
 - 纸件或图形文件形式
- b. 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:
- c. 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))
 - 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)
2. 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。
3. 补充意见:

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a),对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. 权利要求: 18-20
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题,即:
[1] 权利要求18-20涉及人体或动物体的治疗方法。
2. 权利要求:
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分,以致不能进行任何有意义的国际检索,具体地说:
3. 权利要求:
因为它们是从属权利要求,并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明,即:

[1] 发明1-63: 权利要求1-17、21-23(都是部分),各自涉及一种分离的靶向B细胞成熟抗原(BCMA)的单克隆抗体,所述抗体包含SEQ ID NO:1或2所示的重链互补决定区1(CDR-H1),和/或包含SEQ ID NO:3或4所示的重链互补决定区2(CDR-H2),和/或包含SEQ ID NO:5或6所示的重链互补决定区3(CDR-H3),和/或包含SEQ ID NO:7或8所示的轻链互补决定区1(CDR-L1),和/或包含SEQ ID NO:9或10所示的轻链互补决定区2(CDR-L2),和/或包含SEQ ID NO:11或12所示的轻链互补决定区3(CDR-L3)。

[2] 由于发明1-63之间涉及的CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3的序列组合不同,进而所形成的抗体分子或其片段的结构不同,因而上述各项发明之间没有相同或者相应的特定技术特征,不存在技术关联,不属于一个总的发明构思,不符合PCT实施细则13.1、13.2和13.3的规定。

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费,本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索,本单位未通知缴纳任何加费。
3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费,本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求,具体地说,是权利要求:
4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此,本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明;包含该发明的权利要求是: 1-17、21-23(都是部分)

对异议的意见

- 申请人缴纳了附加检索费,同时提交了异议书,适用时,缴纳了异议费。
- 申请人缴纳了附加检索费,同时提交了异议书,但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2020/117757

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2017021450	A1	2017年 2月 9日	KR	20180042271	A	2018年 4月 25日
				AU	2016302881	A1	2018年 2月 8日
				PL	3331910	T3	2020年 5月 18日
				JP	2018532766	A	2018年 11月 8日
				LT	3331910	T	2020年 3月 25日
				CN	108350073	A	2018年 7月 31日
				CO	2018001149	A2	2018年 7月 10日
				US	2019352427	A1	2019年 11月 21日
				IL	257233	D0	2018年 3月 29日
				JP	6682632	B2	2020年 4月 15日
				EP	3331910	B1	2019年 12月 11日
				US	10683369	B2	2020年 6月 16日
				BR	112018001955	A2	2018年 9月 18日
				CA	2992797	A1	2017年 2月 9日
				MX	2018001398	A	2018年 5月 28日
				SI	3331910	T1	2020年 7月 31日
				EA	201890441	A1	2018年 7月 31日
				DK	3331910	T3	2020年 3月 16日
				JP	2020109117	A	2020年 7月 16日
				PT	3331910	T	2020年 3月 24日
				HK	1249114	A1	2018年 10月 26日
				RS	60030	B1	2020年 4月 30日
				EP	3670535	A1	2020年 6月 24日
				EC	SP18007905	A	2018年 10月 31日
				ZA	201800435	B	2018年 12月 19日
				ES	2777602	T3	2020年 8月 5日
				CL	2018000281	A1	2018年 11月 9日
				HR	P20200390	T1	2020年 6月 12日
				EP	3331910	A1	2018年 6月 13日